

Evaluation of the Impact and Mapping of “Crown Gall” (*agrobacterium tumefaciens*) in the *Rubus* Species Producing Communities in Tarija and Cochabamba

Evaluación de la Incidencia y Mapeo de la Agalla de Corona (*agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Género *Rubus* en Tarija y Cochabamba

Author / Autor:

Sergio Martínez

Submitted / Presentado

April 2004

Abril de 2004

MAPA

Market Access and Poverty Alleviation

Acceso a Mercados y Alivio a la Pobreza

USAID/Bolivia

Economic Opportunities Office / Oficina de Oportunidades Económicas
Jorge Calvo, CTO

Contract No. / No. de Contrato PCE-I-08-99-00003-00

Task Order No. / Orden de Tarea No. 806



Implemented by the Chemonics RAISE Consortium, Chemonics International Incorporated
with CARE, Texas A&M, and PRIME International
Implementado por el Consorcio Chemonics RAISE, Chemonics International Incorporated
junto con CARE, Texas A&M, y PRIME International

Table of Contents	Tabla de Contenido
I. INTRODUCTION	I. INTRODUCCIÓN
1.1. Background	1.1. Antecedentes
1.2. Purpose:	1.2. Propósito:
1.3. Responsibilities.	1.3. Responsabilidades.
II. METHODOLOGY	II. METODOLOGÍA
2.1. Location.	2.1. Localización.
2.2. Determination of the Presence of <i>Agrobacterium spp.</i> And Evaluation of Incidence.	2.2. Determinación de la presencia de <i>Agrobacterium spp.</i> y Evaluación de la Incidencia.
2.2.1. Samplings:	2.2.1. Muestreo:
2.2.2. Incidence:	2.2.2. Incidencia:
2.2.3. Sample Quantity and Incidence Evaluations by Community.	2.2.3. Cantidad de Muestras y Evaluaciones de Incidencia por Comunidad.
2.2.4. Community and Farm Records	2.2.4. Registros por Comunidad y por Finca
III.TECHNICAL BACKGROUND OF <i>Agrobacterium spp.</i>	III. ANTECEDENTES TÉCNICOS DE <i>Agrobacterium spp.</i>
3.1. The Crown Gall Disease	3.1. La Enfermedad de la Agalla de Corona – Crown Gall
3.1.1. Crown Gall Disease in Raspberry and Blackberry	3.1.1. La Enfermedad de la Agalla de Corona en Frambuesa y Zarzamoras
3.1.2. Control Methods	3.1.2. Medios de Control
3.2. Description of <i>Agrobacterium spp.</i>	3.2. Descripción de <i>Agrobacterium spp.</i>
3.3. Infection Mechanism – Pathogenicity	3.3. Mecanismo de Infección – Patogenidad
3.4. Investigative Background of <i>Agrobacterium spp.</i> for Tarija and Cochabamba	3.4. Antecedentes de Investigaciones sobre <i>Agrobacterium spp.</i> en Tarija y Cochabamba
3.4.1. Tarija. 23	3.4.1. Tarija. 23
3.4.2. Cochabamba.	3.4.2. Cochabamba.
IV. RESULTS OF THE INVESTIGATION AND THEIR ANALYSIS	IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN
4.1. Determination of the Presence of <i>Agrobacterium spp.</i>	4.1. Determinación de la Presencia de <i>Agrobacterium spp.</i>
4.1.1. Phytopathology Laboratory Analysis 31	4.1.1. Análisis Fitopatológico de Laboratorio
4.1.2. Photographic Summary.	4.1.2. Resumen Fotográfico.
4.2. Level of Incidence of Crown Gall	
4.3. Mapping of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .	

4.4. pH Conditions for the Presence and Infection of <i>Agrobacterium spp.</i>	43	4.2. Nivel de Incidencia de la Agalla de Corona	34
V. PROPOSAL OF STRATEGIES FOR THE INTRODUCTION OF NEW MATERIAL INTO THE STUDY ZONE	44	4.3. Mapeo y Zonificación de <i>Agrobacterium tumefaciens.</i>	40
VI. CONCLUSIONS	48	4.4. Condiciones de pH para la presencia e infección de <i>Agrobacterium spp.</i>	43
		V. PROPUESTA DE ESTRATEGIAS PARA LA INTRODUCCIÓN DE MATERIAL NUEVO A LAS ZONAS DE ESTUDIO	44
		VI. CONCLUSIONES	48

EXECUTIVE SUMMARY

The MAPA Project, in support of the FDTA-Valleys, has the objective of promoting competitive crops through the introduction of plant material from the United States. For this reason, has planted evaluation plots with raspberry and blackberry in different areas of Tarija and Cochabamba. Since these species are susceptible to Crown Gall disease, caused by *Agrobacterium tumefaciens*, it was decided that a study in “**Evaluation and Mapping of the Incidence of Crown Gall (*Agrobacterium tumefaciens*) in Communities Producing Species of the *Rubus* Genus In Tarija and Cochabamba**” was important.

The investigation was carried out among ten communities, 8 in Tarija in the Méndez and Cercado Provinces: Tomatas Grande, Canasmoro, Tarija Cancha, Sella Méndez, Rancho Norte, Rancho Sur, Erquis Ceibal, and San Luis; and 2 in Cochabamba in the Chapare Province: Tusca Pugio and Huayllani Chico, where 36 farms and 8 different crops were evaluated, for a total of 75 evaluations.

The first result of the study was the detection of *Agrobacterium tumefaciens*, causing the Crown Gall in all of the communities studied, proving the generalized distribution of *Agrobacterium tumefaciens* in the study zone and corroborating previous studies in Tarija and Cochabamba that had already indicated the presence of this pathogen.

Agrobacterium tumefaciens, caused Crown Gall, and was detected in Raspberry, Blackberry, Peach, Apples, Grapevine, Plum, and Apricot crops.

The presence of *Agrobacterium rhizogenes*, causing Root Proliferation was also detected in all of the communities studied, with the exception of Tusca Pugio in Cochabamba. This pathogen was detected mostly in Apple cultivations, and to a lesser degree in Peach and Plum crops.

RESUMEN EJECUTIVO

El Proyecto MAPA, en asistencia a la FDTA – Valles, tiene como objetivo general difundir cultivos competitivos con material vegetal introducido de los Estados Unidos, razón por la cual ha implantado parcelas de evaluación en diferentes localidades de Tarija y Cochabamba con cultivos de Frambuesa y Zarzamora. Por ser estas especies susceptibles a la enfermedad de la Agalla de Corona, causada por *Agrobacterium tumefaciens* ha visto por conveniente realizar el estudio “**Evaluación de la Incidencia y Mapeo de la Agalla de Corona (*Agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Genero *Rubus* en Tarija y Cochabamba**”

El trabajo de investigación se realizó en 10 comunidades, 8 de Tarija, en las provincias Méndez y Cercado: Tomatas Grande, Canasmoro, Tarija Cancha, Sella Méndez, Rancho Norte, Rancho Sur, Erquis Ceibal y San Luis, y 2 comunidades de Cochabamba, en la provincia Chapare: Tusca Pugio y Huayllani Chico; donde se evaluaron 36 fincas y 8 cultivos diferentes, realizándose en total 75 evaluaciones.

El primer resultado obtenido fue la detección de *Agrobacterium tumefaciens* causando la enfermedad de la Agalla de Corona en todas las comunidades estudiadas, comprobando la distribución generalizada de *Agrobacterium tumefaciens* en la zona de estudio, corroborando así citas de investigaciones anteriores en Tarija y Cochabamba, donde ya se informa la presencia de este patógeno.

Agrobacterium tumefaciens fue detectado causando la Agalla de Corona en los cultivos de Frambuesa, Zarzamora, Durazno, Manzano, Vid, Ciruelo y Damasco.

También se detectó la presencia de *Agrobacterium rhizogenes* causando la Proliferación de Raíces, en todas las comunidades estudiadas a excepción de la comunidad de Tusca Pugio en Cochabamba. Este patógeno fue detectado principalmente en el Manzano, y en menor grado en Duraznero y Ciruelo.

This investigation did not differentiate between *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rubi* due to the fact that both species cause the same symptoms in the *Rubus* species, Raspberry and Blackberry, and both pathogens cause Crown Gall (or Cane Gall) in both *Rubus* species.

In terms of the level of incidence of *Agrobacterium tumefaciens*, results show a higher percentage in the communities of Cochabamba, with 23.56% in Tusca Pugio and 13.18% in Huayllani Chico. The communities of Tarija presented the following decreasing levels of incidence: Tomatas Grande (10.49%), Sella Méndez (6.89%), Erquis Ceibal (6.52%), Tarija Cancha (5.23%), San Luis (3.31%), Rancho Norte (2.94%), Rancho Sur (2.51%), and Canasmoro (1.93%).

The levels of incidence among cultivations presented in the following order of decreasing significance: Apricot (50.00%), Plum (19.88%), Apple (13.40%), Peach (4.00%), Blackberry (2.85%), Grapevine (2.52%), and Raspberry (0.41%).

A mapping of Crown Gall substantiated the widespread distribution of *Agrobacterium tumefaciens* in the communities studied in the Central Valley of Tarija and the Cochabamba Valley, affecting at least seven crops. The results of this investigation indicate that this pathogen has been present for various years in the zone studied, and continues to be present.

I. INTRODUCTION

1.1. Background

The MAPA Project (Market Access and Poverty Alleviation) has as its main objective to provide assistance to the Foundation for the Development of Agricultural Technology for the Valleys and to develop sub-sectors for various agricultural products. The MAPA Project works within the Foundation to strengthen and support its activities in these first years of operation, working to reduce rural poverty, increase competitiveness in the agricultural sector, and

En este trabajo de investigación, no se diferenció entre *Agrobacterium tumefaciens* y *Agrobacterium rubi*, debido a que ambas especies causan el mismo síntoma en las especies de *Rubus*, Frambuesa y Zarzamora, y ambas especies patógenas pueden causar la enfermedad de la agalla de corona (o agalla de la caña) en ambas especies de *Rubus*.

En cuanto al nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens*, los resultados muestran un porcentaje mayor en las comunidades de Cochabamba, con 23.56% en Tusca Pugio y 13.18% en Huayllani Chico. Entre tanto para las comunidades de Tarija, en orden decreciente de importancia relativa de su Incidencia, presentaron: Tomatas Grande (10.49%), Sella Méndez (6.89%), Erquis Ceibal (6.52%), Tarija Cancha (5.23%), San Luis (3.31%), Rancho Norte (2.94%), Rancho Sur (2.51%) y Canasmoro (1.93%).

Para el nivel de Incidencia por cultivo, los resultados en orden decreciente de importancia indicaron: Damasco (50.00%), Ciruelo (19.88%), Manzano (13.40%), Durazno (4.00%), Zarzamora (2.85%), Vid (2.52%) y Frambuesa (0.41%).

De esta manera se comprobó la distribución generalizada de *Agrobacterium tumefaciens* en la zonificación de la Agalla de Corona en todas las comunidades en estudio del Valle Central de Tarija y el Valle de Cochabamba, afectando al menos a siete cultivos, lo que indica que este patógeno estuvo y está presente hace varios años atrás en la zona de estudio.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El Proyecto MAPA (Acceso a Mercados y Alivio a la Pobreza) tiene como objetivo principal dar asistencia a la Fundación para el Desarrollo Tecnológico Agropecuario de la región de los Valles y desarrollar subsectores de varios productos. El Proyecto trabaja al interior de la Fundación y respalda su fortalecimiento y acciones en estos primeros años, buscando contribuir a reducir la pobreza rural, incrementar la competitividad en el sector agrícola y promover un uso sostenible de los recursos

promote the sustainable use of natural resources.

The general objective of the MAPA Project is to promote competitive crops through the introduction of plant material from California, United States, in order to diversify the production of various fruits such as berries, and other ornamental species such as cut flowers. This is to improve the income of producer families by guaranteeing the sales of fresh products, transformed in a sustainable manner.

Consequently, plant material, consisting in seeds, bulbs and seedlings of selected species have been imported, in order to evaluate their adaptability by cultivating them in conditions similar to their places of origin. The valleys of Tarija and Cochabamba present those kinds of similar conditions and are suitable for the cultivation of berries and other species. Evaluation plots are being implemented in different areas in the Méndez Province of Tarija and in communities of Cochabamba for the above motives in order to guarantee the cultivation of plant material in selected zones. Given the fact that some varieties of berries are susceptible to infection by the pathogen *Agrobacterium tumefaciens*, the causing agent of Crown Gall disease, we consider appropriate to carry out an evaluation to detect or establish the presence and degree of infection of the pathogen in the soil of the areas under investigation, taking into account that this pathogen can be found throughout the world.

1.2. Purpose:

The purpose of this consultancy is to evaluate the incidence of soil infection by the bacteria *Agrobacterium tumefaciens* in the target communities of this project through an evaluation and mapping of the mentioned areas.

1.3. Responsibilities.

1. Compilation of all necessary information with regard to past studies in this topic in the valleys of Tarija and Cochabamba.

naturales.

El objetivo general del Proyecto es: difundir cultivos competitivos con material vegetal introducido de Estados Unidos, California, para diversificar la producción de algunos frutales como bayas y otras especies ornamentales como flores de corte, mejorando los ingresos de las familias, garantizando la comercialización de productos frescos y transformados de manera sostenible.

Consecuentemente, se viene realizando la importación de material vegetal consistente en semillas, bulbos y plantines de las especies seleccionadas a fin de evaluar la adaptabilidad de las mismas, cultivadas en condiciones similares a las de origen. Los valles de Tarija y Cochabamba, presentan condiciones y características similares y adecuadas para el cultivo de bayas y otras especies, por lo que se está implementando parcelas de evaluación en diferentes localidades de la provincia Méndez de Tarija y otras comunidades de Cochabamba. Por lo anterior y para garantizar la implantación del material vegetal en las zonas elegidas, en el caso de las bayas algunas de cuyas variedades pueden ser susceptibles a la infección por el patógeno *Agrobacterium tumefaciens*, agente causal de la enfermedad Agalla de Corona; se considera conveniente realizar un trabajo de monitoreo a fin de detectar o determinar la presencia y grado de infección del patógeno en los suelos de las áreas en estudio, teniendo en cuenta que este patógeno se encuentra diseminado en todo el mundo.

1.2. Propósito:

El propósito de esta consultoría es el de evaluar la Incidencia de Infección de los suelos por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, en las comunidades de interés del proyecto a través de un monitoreo y mapeo de dichas áreas.

1.3. Responsabilidades.

1. Recopilación de toda la información necesaria respecto a anteriores estudios realizados respecto al tema en los Valles de Tarija y Cochabamba.

2. Monitoring and Mapping to detect the presence of the *Agrobacterium tumefaciens* bacteria in the investigation area, through the evaluation of susceptible native or exotic species with an emphasis in *Rubus sp* or other recommended alternative methods.

3. Submission of a final document that includes the following:

- Summary of previously compiled information.
- Results from evaluations and mapping of quantified results by zone.
- According to the results, set-up strategies for the introduction of new plant material in the study zones.
- Description of the methodology used to detect the presence and incidence of the pathogen and to quantify levels of infection.

II. METHODOLOGY

2.1. Location.

The communities under investigation designated by the MAPA Project, are shown in the following table. They are located in the Méndez and Cercado Provinces of the Department of Tarija and in the Chapare Province of the Department of Cochabamba.

Table N° 1

Study Communities

No.	Tarija	No.	Cochabamba
1.	Rancho Norte	1.	Tuscapugio
2.	Rancho Sud	2.	Huayllani Chico
3.	Tomatas Grande		
4.	Canasmoro		
5.	San Luís		
6.	Tarija Cancha (*)		
7.	Erquis Ceibal (*)		
8.	Sella Méndez (*)		

(*)A solicitud de la Ing. Lily Alvestegui, en presencia de los responsables de AFRUTAR, se cambio la comunidad de Erquis Norte por la de Tarija Cancha e igualmente se solicitó la incorporación de las comunidades de Erquis Ceibal y Sella Méndez. (03/02/04)

2. Monitoreo y Mapeo para detección de la presencia de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* a través de la evaluación de especies susceptibles nativas o exóticas con énfasis en *Rubus sp.*, presentes en el área de estudio u otros métodos alternativos por él recomendados.

3. Entrega de un documento final que incluya:

- Compendio de la información previamente recopilada
- Resultados del monitoreo y mapeo zonificado con los datos cuantificados.
- De acuerdo a los resultados, estrategias a seguir en cuanto a la introducción de material vegetal nuevo a las zonas de estudio.
- Descripción de metodología utilizada para detectar la presencia e incidencia del patógeno, además de cuantificar el grado de infección del mismo.

II. METODOLOGÍA

2.1. Localización.

Las comunidades en estudio definidas por el Proyecto MAPA, que son indicadas en el cuadro a continuación, están ubicadas en las provincias Méndez y Cercado del departamento de Tarija y la provincia Chapare del departamento de Cochabamba.

Cuadro N° 1

Comunidades en Estudio

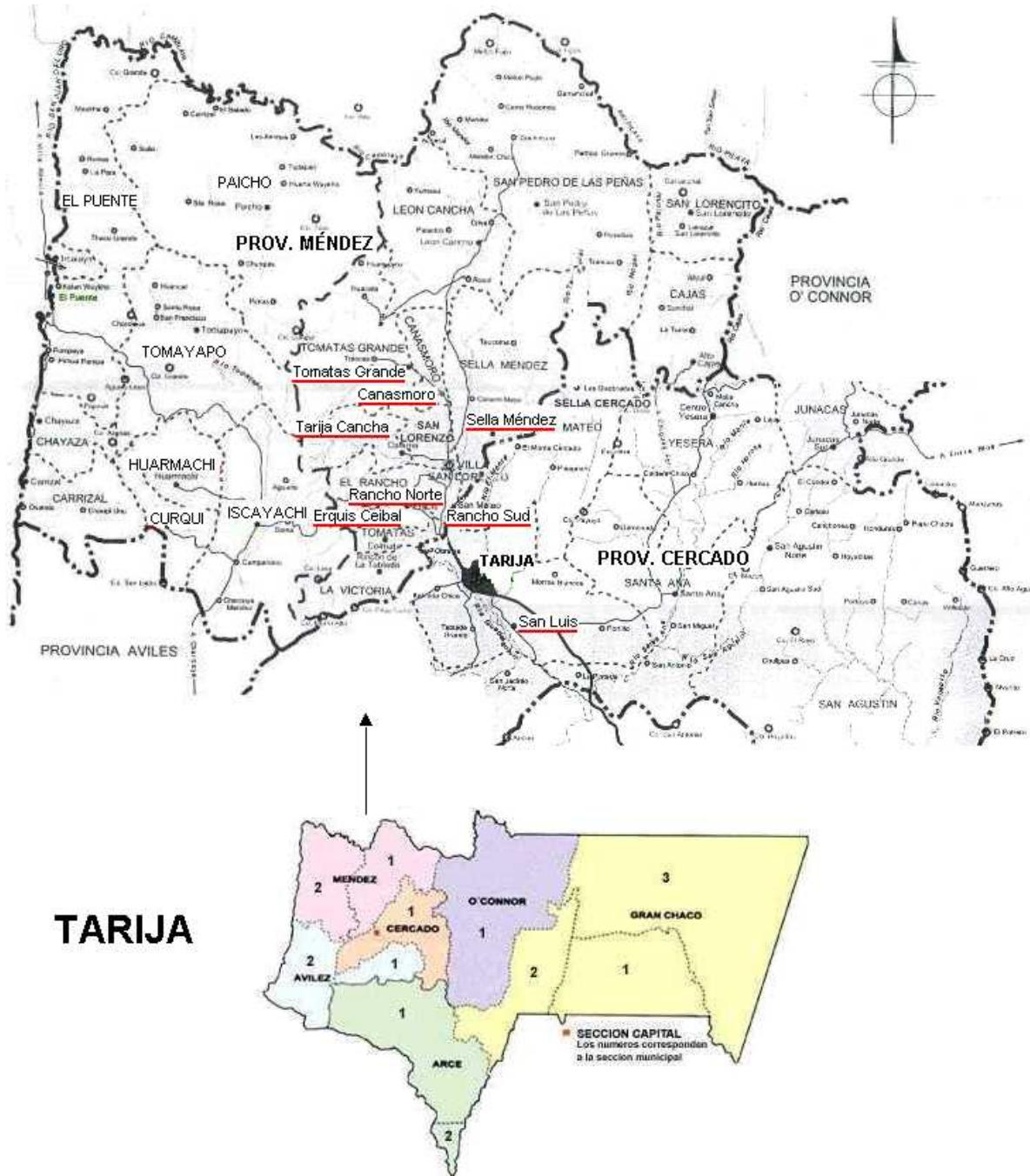
No.	Tarija	No.	Cochabamba
1.	Rancho Norte	1.	Tuscapugio
2.	Rancho Sud	2.	Huayllani Chico
3.	Tomatas Grande		
4.	Canasmoro		
5.	San Luís		
6.	Tarija Cancha (*)		
7.	Erquis Ceibal (*)		
8.	Sella Méndez (*)		

(*)At the request of Lily Alvestegui, in the presence of representatives of AFRUTAR, the community of Erquis Norte was exchanged for Tarija Cancha. Likewise, the incorporation of Erquis Ceibal and Sella Méndez communities were requested. (03/02/04)

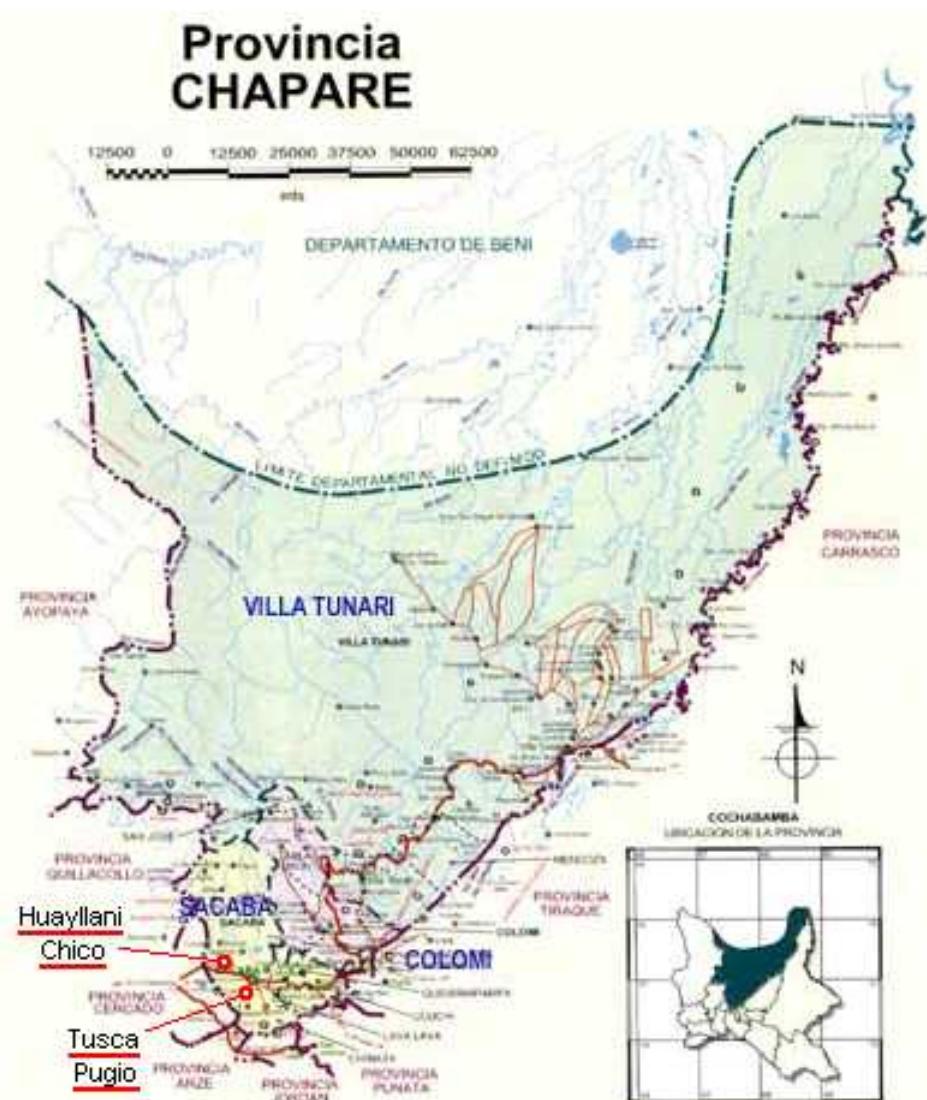
In order to carry out the evaluation, taking into account as a reference the plots of land of the AFRUTAR members in Tarija with production of *Rubus* species, AFRUTAR provided information on their members which is shown in Annex N° 1.

Con el fin de realizar el monitoreo tomando como referencia las parcelas de los socios de AFRUTAR en Tarija, con producción de especies de *Rubus*, AFRUTAR nos proporcionó la información referente a sus socios, listado que es presentado en el Anexo N° 1.

MAPA No. 1



MAPA No.2
MAPA DE UBICACIÓN PROVINCIA CHAPARE COCHABAMBA



Fuente/Source: www.aguabolivia.org

2.2. Determination of the Presence of *Agrobacterium spp.* and Evaluation of Incidence.

2.2.1. Samplings:

The sample gathering (and evaluations) was performed on different farms/plots of the 10 communities being studied (8 from Tarija and 2 from Cochabamba). The plots evaluated were the following:

- Plots cultivated with the *Rubus* species (Raspberry, Blackberry).
- Fruit trees plots of land (Peach, Apple, Grapes, etc.) and other dicotyledonous species.
- The borders of plots of land with fruit trees.

For the detection of crown gall and to gather samples, an exhaustive inspection was done plant by plant, specially on plants with weakening symptoms, the plants were taken out from the ground (up to 10cm deep) in order to observe the crown, superficial root system, and the stem of up to 1m in height.

The samples, parts of the stem and/or roots, presented galls (abnormal protuberances). These samples were placed in nylon bags and were identified. These were then taken to a phytopathology laboratory for a process of histological cuts that should present the classic symptoms of hyperplasia and hypertrophy.

The sampling for determining the presence of *Agrobacterium* was directed, that is to say, it was not carried out at random. Samples were searched for with the help of producers whose plants presented symptoms.

Soil samples were also taken to determine pH levels (500 gr./plot) in order to obtain a referential idea of the alkalinity-acidity of the soil of plots of land cultivated in each community.

2.2. Determinación de la presencia de *Agrobacterium spp.* y Evaluación de la Incidencia.

2.2.1. Muestreo:

El muestreo (y monitoreo) se realizó en diferentes fincas - parcelas de las 10 comunidades en estudio (8 de Tarija y 2 de Cochabamba). Las parcelas a evaluar fueron:

- Parcelas implantadas con especies de *Rubus* (Frambuesa, Zarzamora)
- Parcelas de frutales (Durazno, Manzano, Vid, etc.) arbóreos y otras especies de dicotiledóneas.
- Linderos de las parcelas con árboles frutales.

Para la detección de agallas y obtención de muestras se realizó una inspección exhaustiva planta por planta, en especial de aquellas que presenten síntomas de debilitamiento, se descalzó la planta (hasta 10 cm. de profundidad) para observar cuello, sistema radicular superficial y tallo hasta una altura de 1m.

Las muestras fueron agallas, partes de tallo y/o raíces con presencia de agallas (protuberancias anormales). Estas se colocaron en bolsa de naylon e identificó para ser llevadas al laboratorio de fitopatología para su confirmación, mediante cortes histológicos que deberán presentar los clásicos síntomas de hiperplasia e hipertrofia.

El muestreo para la determinación de la presencia de *Agrobacterium* fue dirigido, es decir no se realizó al azar, si que se buscó, con ayuda de los mismos productores, aquellas plantas que presentaban los síntomas.

Además se obtuvo muestras de suelo para determinar el pH (500 gr./parcela) con el objeto de tener una idea referencial de la alcalinidad – acidez del suelo, de las parcelas cultivables de cada comunidad.

These soil samples were sent to soil laboratories for determining pH levels in order to evaluate the survival conditions of the pathogen and its infective capacity, which is only activated when pH levels are between 5.0 and 5.8.

Soil samples were taken at random. One sample was taken per community from a plot with characteristics common with the rest of the community. Each sample was made up of 10 to 15 sub-samples gathered from different points in the plot after having drawn an X on the ground. Then all of the sub-samples were mixed in order to arrive at a sample of approximately 500 gr.

2.2.2. Incidence:

By definition incidence is the percentage of affected plants over the total plants evaluated, in accordance with the following formula:

Number of affected or symptomatic plants

$$\% I = \frac{\text{Number of affected or symptomatic plants}}{\text{Total number of plants evaluated}} \times 100$$

Total number of plants evaluated

Two types of evaluation were carried out on each plot:

1. Directed Incidence (DI):

The number of symptomatic plants were recorded by crop, plot, or border (indicated by the producer or detected by observation), and the total number of plants in this crop, plot, or border (of the same species) were counted or estimated, depending on the size of the crop.

2. Random Incidence (RI):

An evaluation was carried out at random, taking two or three 5x5 squares (repetitions) per plot and counting the total number of plants and number of plants with symptoms. Selected plots were those cultivated with Raspberry or Blackberry or those cultivated with Peach, Apple, Grapevine, or other susceptible species.

Las muestras de suelo fueron enviadas al laboratorio de suelos para determinación del pH, esto con el objeto de evaluar las condiciones para la sobrevivencia y poder infectivo del patógeno, el cuál solo puede infectar a las plantas cuando el pH se encuentra entre 5.0 y 5.8.

El muestreo de suelos se realizó al azar, obteniendo una muestra por comunidad, dentro de una parcela con características comunes y homogéneas a la comunidad. Cada muestra estuvo constituida de 10 a 15 submuestras tomadas en diferentes puntos de muestreo, luego de trazar una X en la parcela. Luego se homogeneizó todas las submuestras para conseguir la muestra de aproximadamente 500 gr.

2.2.2. Incidencia:

Por definición Incidencia es el porcentaje de plantas afectadas sobre el total de plantas evaluadas, de acuerdo a la siguiente fórmula:

Número de plantas afectadas o sintomáticas

$$\% I = \frac{\text{Número de plantas afectadas o sintomáticas}}{\text{Número total de plantas evaluadas}} \times 100$$

Número total de plantas evaluadas

Se realizó dos tipos de evaluación en cada parcela:

1. Incidencia Dirigida (ID):

Se registró el número de plantas sintomáticas por cultivo, parcela o lindero (mostradas por el productor o detectadas por observación) y se registró el número total de plantas de ese cultivo, parcela o lindero (de la misma especie) por conteo o por estimación dependiendo el tamaño del cultivo.

2. Incidencia al Azar (IA):

Se realizó una evaluación de la incidencia al azar, tomando dos o tres cuadros (repeticiones) por parcela de 5 x 5 m. donde se contó el número total de plantas y el número de plantas con síntomas. Las parcelas seleccionadas fueron las implantadas con Frambuesa o Zarzamora y las implantadas con Durazneros, Manzanos, Vides u otras especies susceptibles.

2.2.3. Sample Quantity and Incidence Evaluations by Community.

The number of farm/plots sampled and evaluated per community was variable, depending on the cultivation areas of each community and the variability of susceptible crops.

In general, a minimum of the following samples was attempted per community:

- 2 or 3 plots of *Rubus* (Raspberry or Blackberry)
- 2 or 3 plots with other species (Peach, Apple, Grapevine, etc.)
- Various borders and isolated plants of susceptible species.

2.2.4. Community and Farm Records

Community:

A sketch of the location of the community and a sketch of the layout of the community, showing the relative location of each sampled farm, were drawn up.

Farm:

On each farm/plot data was registered with regard to the community, evaluation date, owner, species cultivated, incidence evaluation, and the quantity of samples taken, along with a sketch of the layout of the farm. All of this information was recorded in the Plot Records, presented in Annex N° 2.

III. TECHNICAL BACKGROUND OF *Agrobacterium* spp.

3.1. The Crown Gall Disease

Crown Gall is a disease caused by the *Agrobacterium tumefaciens* bacteria that lives in the soil. This disease is reported worldwide and affects many herbaceous and ligneous species. These facts give rise to the polyphasic and

2.2.3. Cantidad de Muestras y Evaluaciones de Incidencia por Comunidad.

El número de fincas – parcelas muestreadas y evaluaciones realizadas por comunidad fue variable, dependiendo de la extensión cultivable de cada una y la variabilidad de cultivos susceptibles.

En general, por comunidad se intentó realizar mínimamente:

- 2 ó 3 parcelas de *Rubus* (Frambuesa o Zarzamora)
- 2 ó 3 parcelas con otras especies (Durazneros, Manzanos, Vides, etc.)
- Varios linderos y plantas aisladas de especies susceptibles.

2.2.4. Registros por Comunidad y por Finca

Comunidad:

En cada comunidad se realizó un croquis del transecto de la comunidad y un croquis en planta de la comunidad indicando la ubicación relativa de cada finca muestreada.

Finca:

En cada finca – parcela se registraron los datos referentes a la comunidad, fecha de evaluación, nombre del propietario, especies cultivadas, los datos de la evaluación de la Incidencia, la cantidad de muestras obtenidas y un croquis en planta de la finca. Toda esta información fue registrada de acuerdo al formulario de Registro de Parcelas, presentado en el Anexo N° 2.

III. ANTECEDENTES TÉCNICOS DE *Agrobacterium* spp.

3.1. La Enfermedad de la Agalla de Corona – Crown Gall

La Agalla de Corona es una enfermedad provocada por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, bacteria habitante del suelo, reportada en todo el mundo afectando a numerosas especies herbáceas y leñosas, de ahí su característica polifaga y cosmopolita,

cosmopolitan nature of the disease.

This bacteria is capable of affecting all dicotyledons, herbaceous as well as ligneous, of horticultural, fruit, and forestry species. Lacroix (2004) indicates that it infects more than 600 species distributed among 93 families. The most susceptible cultivable species are the following: Peach, Grape, Apple, Pear, Rose, Raspberry, Fig, Plum, Apricot, and Willow, among others.

The disease is characterized by presenting tumors or galls at the base or crown of the plant, the stem or roots. These galls are generally found superficially and up to 50cm below soil level, or in the aerial section more than 1m above the stem or basal branches. Tumors, or teratomas, called so for their monstrous appearance, are initially spherical, whitish, spongy, or corky, or are compact, with an irregular surface area. As they age they become dark brown or black, lignify, and split, leaving the plant susceptible to attack from other saprophyte soil organisms. The size of galls ranges from that of a pea to more than 30cm in diameter.

Crown Gall (*A. tumefaciens*) causes an increase in the volume of plant tissues through abnormal, uncontrolled cellular multiplication (hyperplasia) and/or abnormal cell growth (hypertrophy), with symptoms such as unlimited growth alterations and amorphous changes.

When the tumor encircles or surrounds the crown of the plant it makes the vascular system non-functional, affecting the translocation of water and other mineral elements. Affected plants appear weak and have reduced growth, or are dwarfed until they are strangled and killed by the disease.

Once the plant is infected and the bacteria has transferred its genetic material, the tumor continues to grow even in the absence of the bacteria (due to changes in environmental conditions). For this reason, it is possible to discover tumors without the presence of the bacteria.

ubiquiste o de distribución mundial.

Esta bacteria es capaz de afectar a todas las dicotiledóneas, tanto herbáceas como leñosas de especies hortícolas, frutales y forestales. Lacroix (2004) indica que afecta a mas de 600 especies distribuidas en 93 familias. Entre las especies cultivables más susceptibles se citan: el Duraznero, la Zarzamora, la Vid, el Manzano, el Peral, la Rosa, la Frambuesa, la Higuera, el Ciruelo, el Damasco, el Sauce, entre otras varias.

La enfermedad se caracteriza por presentar tumores o agallas en la base de la planta o cuello, el tallo o las raíces. Estas agallas por lo general se encuentran superficialmente y hasta los 50 cm. de profundidad bajo el suelo o en la parte aérea a más de 1 metro sobre el tallo o ramas basales. Los tumores o teratomos, por su característica monstruosa, inicialmente son esféricas, blanquecinas, esponjosas o corchosas, o compactas, de superficie irregular. Cuando envejecen tornan a un color café oscuro o negro, se lignifican y resquebrajan, quedando susceptibles al ataque de otros organismos saprofitos del suelo. Las dimensiones de las agallas van desde el tamaño de una arveja a mas de 30 cm. de diámetro.

La Agalla de Corona (*A. tumefaciens*) provoca un aumento de volumen de los tejidos vegetales por multiplicación celular anormal incontrolada (*hiperplasia*) y/o crecimiento anormal de las células (*hipertrofia*) como síntomas de alteraciones del crecimiento, cambios amorfos, no limitados.

Cuando el tumor abraza o rodea el cuello de la planta, deja al sistema vascular no funcional, afectando la translocación de agua y elementos minerales. Las plantas afectadas presentan una apariencia débil, reducción del crecimiento o enanismo, hasta lograr estrangular y matar a la planta.

Una vez que la planta a sido infectada y la bacteria ha transferido su material genético, aún en ausencia de la bacteria (por cambios en las condiciones medio ambientales) el tumor sigue creciendo, por lo que es posible encontrar tumores sin la presencia de la bacteria.

Agrobacterium tumefaciens is disseminated mostly through the introduction of infected plant material, even if the material does not present symptoms when the bacteria is in a latent stage, through the dragging of particles of the infected soil, by irrigation and by the use of tools, especially pruning instruments that have not been disinfected.

Various bibliographical references confirm these characteristics:

Lacroix, M. (2004), referring to *Agrobacterium tumefaciens*, indicates: “It affects more than 600 species distributed among 93 families. The plants of the rose families are particularly sensitive, as well as those of Apple, Pear, Cherry, Rose, and Raspberry. On the other hand, cereals and corn are not affected by *Agrobacterium tumefaciens*.”

De Cleene (in PHYTON, 2000) mentions: “...of only having cited 643 species as possible host plants.”

Ferraro Olmos (1983) indicates: *Agrobacterium tumefaciens* “... is very polyphasic, since it attacks different fruit, forestry, and horticultural species (some 150 species). This species lives saprophytically in the soil on vegetative residue.”

Bradbury, J. F. (in PHYTON, 2000), referring to Crown Gall caused by *A. tumefaciens*, indicates: “Commercial interchange has contributed to the dissemination of the disease, and currently this bacteria is distributed throughout the world.”

Smith, C (1912), cited by Marchionato (1948), already mentions this disease at the beginning of the 20th century: “Crown Gall is a very common disease that has been found in many plants () and is universally distributed.”

Fernandez Valiela (1952) indicates with respect to *A. tumefaciens*: “Hosts: It is a polyphasic bacteria”, “Geographic Distribution: It’s a disease that exists world-wide, and is of such economic importance that almost all countries include it in their sanitary legislation.”

Agrobacterium tumefaciens es diseminada especialmente por la introducción de material vegetal infectado, aún sin que este presente síntomas por estar en estado latente, por el arrastre de partículas de suelo infectado, por el agua de riego y el uso de herramientas, en especial de podas, sin desinfectar.

Diferentes citas bibliográficas confirman estas características:

Lacroix, M. (2004) refiriéndose a *Agrobacterium tumefaciens* señala: “... Afecta a más de 600 especies de plantas repartidas en 93 familias. Las plantas de la familia de las Rosáceas son particularmente sensibles, como el manzano, el peral, la cereza, la rosa y la frambuesa. Al contrario los cereales y el maíz, no son afectados por *Agrobacterium tumefaciens*”

De Cleene (in PHYTON, 2000) menciona: “...al haber sido citadas como posibles plantas huéspedes 643 especies”

Ferraro Olmos (1983) señala: *Agrobacterium tumefaciens* “... la cual es sumamente polífaga, ya que ataca a diferentes especies frutales, forestales y hortícolas (unas 150 especies). Esta especie vive en saprotísmo en el suelo, sobre residuos vegetales”.

Bradbury, J. F. (in PHYTON, 2000) refiriéndose a la agalla de corona causada por *A. tumefaciens*, señala: “Los intercambios comerciales han contribuido a la diseminación de la enfermedad y actualmente esta bacteriosis se encuentra distribuida por todo el mundo”

Smith, C (1912) citado por Marchionato (1948) ya mencionan a principios del siglo XX: “La agalla de corona es una enfermedad muy común que se ha comprobado en muchas plantas () y se encuentra universalmente distribuida”

Fernandez Valiela (1952) respecto a *A. tumefaciens* señala: “Huéspedes: Es una bacteria muy polífaga”, “Distribución Geográfica: Es una enfermedad que existe en todas partes del mundo, y es tal su importancia económica que casi todos los países la incluyen en su legislación sanitaria”.

The American Phytopathology Society (APS), in its various Compendiums of Apple and Pear Diseases, Stone Fruit Diseases, Grape Diseases, Rose Diseases, etc., confirms the polyphasic nature of this bacteria, which affects a great number of dicotyledons, herbaceous and ligneous species, in wide range of families, as well as confirms its world-wide distribution, with this bacteria being present and reported in all parts of the world.

Moore, L. W. (The APS, 1989) "... Loss in the United States is more than a million dollars annually from the uprooting of trees . . . It is economically impossible to analyze each plant to detect the presence of this pathogen. . . One of the main problems in nurseries and in the introduction of new plants on a farm is the latent presence of this bacteria, without its presenting any symptom until conditions are suitable for infection and development."

Cárdenas Gustavo (1999) indicates: "... In our environment this bacteria is reactivated in September, when temperatures more or less reach 20 °C." In this citation "our environment" refers to Bolivia, particularly Cochabamba, due to the fact that the author's main experiences were developed first in the Mizque Province and then in the Provinces of Punata, Jordán, Esteban Arce, and Quillacollo, where he was (1999) a professor of Fruit Cultivation of the Valley in the "Martín Cárdenas" Agricultural Sciences Department of the *Universidad Mayor de San Simón*.

3.1.1. Crown Gall Disease in Raspberry and Blackberry

Both Raspberry (*Rubus ideaus*) and Blackberry (*Rubus fructicosus*) are susceptible to Crown Gall disease, which is caused by two species of *Agrobacterium*: *A. tumefaciens* and *A. rubi*. Both species have been isolated in plants of the *Rubus* genus.

The American Phytopathological Society (APS), en sus diferentes "Compendiums of Apple and Pear Diseases, Stone Fruit Diseases, Grape Diseases, Rose Diseases, etc." confirman la característica polifaga de esta bacteria, afectando a un gran número de especies dicotiledóneas, herbáceas y leñosas, en una amplia gama de familias; y su distribución mundial, estando presente y reportada esta bacteria en todas partes del mundo.

Moore, L. W. (The APS, 1989) "... Pérdidas en los Estados Unidos ascienden a millones de Dólares anualmente, por el arrancado de árboles...", "... Es económicamente imposible analizar cada planta para detectar la presencia de este patógeno..." Uno de los principales problemas de los viveros y de la introducción de nuevas plantas a una finca, es la presencia latente de la bacteria, sin presentar la planta ningún síntoma, hasta que se den las condiciones adecuadas para su infección y desarrollo.

Cárdenas Gustavo (1999) indica: "... En nuestro medio se reactiva esta bacteria a partir del mes de septiembre, cuando la temperatura alcanza más o menos 20 °C." En este párrafo el autor se refiere con "nuestro medio" a las condiciones de Bolivia y en especial de Cochabamba, puesto que su mayor experiencia se desarrolló primero en la provincia de Mizque y luego las provincias de Punata, Jordán, Esteban Arce y Quillacollo del departamento de Cochabamba, donde fue (1999) docente de la cátedra de Fruticultura del Valle, en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias "Martín Cárdenas" de la Universidad Mayor de San Simón.

3.1.1. La Enfermedad de la Agalla de Corona en Frambuesa y Zarzamoras

Tanto la Frambuesa - Raspberry (*Rubus ideaus*) como la Zarzamora – Blackberry (*Rubus fructicosus*) son susceptibles a la enfermedad de la agalla de corona – crown gall, la misma que es causada por dos especies de *Agrobacterium*: *A. tumefaciens* y *A. rubi*. Ambas especies han sido aisladas de plantas del género *Rubus*.

Characteristics of the disease in the *Rubus* species do not generally differ from those described for all susceptible plants. Tumors are caused in the main stem or fruit-bearing branches, at the crown of the plant, and among roots. The tumors or galls are initially spherical and then become irregular in shape, connecting from one to another until forming the monstrous, deformation of a teratoma.

The development of galls ends up strangulating the plant, inhibiting vascular transportation of water and mineral substances, which causes the death of the infected plants.

3.1.2. Control Methods

Once a plant has been infected with *Agrobacterium* there is no means of combat, even in the absence of the bacteria. For this reason, the combat and control methods must be preventive, among which are recommended:

- Use of healthy plants from certified, prestigious nurseries, although a careful inspection of the plant material is still necessary.
- Elimination of all plants presenting symptoms, especially in the case of raspberry and blackberry.
- Disinfection of pruning tools (70% alcohol or 10% Sodium Hypochlorite p.c.)
- Minimization of plant lesions.
- Implementation of rotations of non-susceptible plants (grass) on infected soils for at least two to three years.
- Implementation of biological control with *Agrobacterium radiobacter*, through immersing roots of new plants to be planted, in solutions containing this antagonistic bacteria.

Las características de la enfermedad en las especies de *Rubus*, no difieren a las descritas de manera general para todas las plantas susceptibles. Provoca tumores en el tallo principal o las cañas fructíferas, en el cuello de la planta y en las raíces. Los tumores o agallas son inicialmente esféricos y luego de forma irregular, acomodándose unos al lado de los otros hasta formar una estructura monstruosa y deformación del teráATOMO.

El desarrollo de las agallas termina por estrangular a la planta, impidiendo el transporte vascular de agua y substancias minerales, lo que causa la muerte de las plantas infectadas.

3.1.2. Medios de Control

Una vez que la planta ha sido infectada por *Agrobacterium* No existe un método de lucha, aún en ausencia de la bacteria. Por lo tanto, los métodos de lucha y control deben ser Preventivos, entre los cuales se recomienda:

- Utilizar plantas sanas, provenientes de viveros certificados y de prestigio, aun que además es siempre necesaria una inspección minuciosa del material vegetal.
- Eliminar toda planta que presente los síntomas, en especial en el caso de Frambuesa y Zarzamora.
- En las podas desinfectar las herramientas (Alcohol 70% o Hipoclorito de Sodio al 10% p. c.)
- Minimizar las heridas en las plantas.
- En suelos infectados, realizar rotaciones con especies no susceptibles (gramíneas) por al menos 2 a 3 años.
- Efectuar un control biológico, con *Agrobacterium radiobacter*, mediante la inmersión de las raíces de las nuevas plantas a implantar, en soluciones conteniendo esta bacteria antagonista.

Adjusting the pH level of the soil can control some diseases; the incorporation of sulfur into the soil is a means of controlling Crown Gall, *Agrobacterium tumefaciens* (Jauch, 1985).

Surgery is also a common practice in controlling the disease, although with random results. This process consists of extracting the tumor and then disinfecting the lesion with *bordaleza* paste (Copper Sulphate plus Lime) or with disinfectants that contain *Agrimicina*. The success of this practice is dependent on the age and size of the tumor, its level of development in the plant tissues, and the extent to which the whole tumor is extracted, since even a few infected cells remaining on the plant will continue to develop. For this reason, the tumor and a part of the healthy cells of the plant should be removed.

3.2. Description of *Agrobacterium spp.*

The *Agrobacterium* genus belongs to the *Rhyzobiaceae* family, just as does *Rhizobium* genus. The bacteria are single-celled organisms that do not contain nuclei, and they are related to the *Prokaryota* kingdom.

Organisms of the *Agrobacterium* genus are rod-shaped, with two to six pericentric flagellum, and are gram-negative (Semal, 1993)

Among bacteria of the *Agrobacterium* genus isolated in soil, water, and plant tissues, species can be discriminated that are not pathogenic, that produce galls or tumors in the stem, roots, or crown of plants (Crown Gall), and that induce Root Proliferation in dicotyledonous plants. In general, all dicotyledons can be infected by strains of *Agrobacterium* (Semal, 1993)

Among *Agrobacterium* species the following can be differentiated:

Pathogenic Species

- *Agrobacterium tumefaciens*

En algunas enfermedades, el ajuste de la reacción del pH del suelo, constituye un método de lucha. En la Agalla de Corona, *Agrobacterium tumefaciens*, la incorporación de azufre al suelo, es una medida que contribuye a controlar la enfermedad (Jauch, 1985).

También es una práctica común, aun que con resultados aleatorios, la cirugía, consistente en la extracción del tumor y posterior desinfección de la herida con pasta bordaleza (Sulfato de Cobre más Cal) o con pastas desinfectantes conteniendo Agrimicina. El éxito de esta práctica está condicionada por la edad y tamaño del tumor, grado de avance de este sobre el tejido de la planta, la completa extracción del tumor, puesto que si se deja solo algunas células infectadas, estas continuarán su desarrollo, por lo que la extirpación debe ser del tumor más una parte de los tejidos sanos de la planta.

3.2. Descripción de *Agrobacterium spp.*

El género *Agrobacterium* pertenece a la familia de las *Rhyzobiaceae*, al igual que el género *Rhizobium*. Las bacterias son organismos unicelulares, desprovistos de núcleo, pertenecientes al reino de los *Prokaryota*.

Los organismos del género *Agrobacterium*, tienen forma de bastones llevando entre 2 a 6 flagelos pericéntricos, de reacción Gram negativo (Semal, 1993)

Entre las bacterias del género *Agrobacterium*, aisladas a partir del suelo, el agua, rhizosfera y tejidos vegetales, se puede distinguir especies que no son patógenas, y aquellas que producen el desarrollo de agallas o tumores en el tallo, las raíces o el cuello (Crown Gall) y otras que inducen la proliferación de raíces, de las plantas dicotiledóneas. De una manera general, todas las dicotiledóneas pueden ser infectadas por cepas de *Agrobacterium* (Semal, 1993)

Entre las especies de *Agrobacterium* se distinguen:

Especies Patógenas

- *Agrobacterium tumefaciens*

Provokes the development of tumors or galls (Semal, 1993)

- Biovar 1: Ample spectrum of range of hosts.
- Biovar 2: Especially stone fruit trees.
- Biovar 3: Isolated only on Grape.
 - *Agrobacterium vitis*

Species isolated on Grape (Lacroix, 2004).

- *Agrobacterium rubi*

Species isolated in plants of the Rubus genus (Raspberry and Blackberry), although tests of the Laboratoire de Diagnostic en Phytoprotection du Ministère de l’Agriculture, des Pêcheries et de l’Alimentation de Québec - MAPAQ has been shown that *A. tumefaciens* provokes tumors and galls in plants of this genus (Lacroix, 2004).

- *Agrobacterium rhizogenes*

Provokes root proliferation (Lacroix, 2004).

Non-pathogenic Species

- *Agrobacterium radiobacter*

Described in reality as a strain of *A. tumefaciens* deprived of “Ti” plasmids (Semal, 1993).

- Strain 84: Produces specific bacteriostatic agrocin 84, capable of inhibiting the development of *A. tumefaciens*; biovars 1 and 2 are currently used as a biological control for Crown Gall disease.

According to Montesinos and Beltrá (*in* PHYTOMA, 2000) biovar 3 of *A. tumefaciens* corresponds to a new nomenclature of *A. vitis*.

Provoca el desarrollo de tumores o agallas (Semal, 1993)

- Viobar 1: Amplio espectro o rango de hospedantes
- Viobar 2: Especialmente frutales de carozo
- Viobar 3: Aislada únicamente de la Vid
 - *Agrobacterium vitis*

Especie aislada de la Vid (Lacroix, 2004)

- *Agrobacterium rubi*

Especie aislada de plantas del género *Rubus* (Frambuesa, Zarzamora), aun que también se demostró que *A. tumefaciens* provoca la tumorización y agallas en plantas de este género, de acuerdo a ensayos del Laboratoire de Diagnostic en Phytoprotection du Ministère de l’Agriculture, des Pêcheries et de l’Alimentation de Québec - MAPAQ (Lacroix, 2004)

- *Agrobacterium rhizogenes*

Provoca la proliferación de raíces (Lacroix, 2004)

Especie No Patógena

- *Agrobacterium radiobacter*

Descrita en realidad como una cepa de *A. tumefaciens* desprovista del plasmido “Ti”. (Semal, 1993).

- Cepa 84: Produce un bacteriostático específico, la agrimicina 84, capaz de inhibir el desarrollo de *A. tumefaciens*, viobars 1 y 2, utilizada actualmente como medio de control biológico de la enfermedad de la Agalla de Corona.

De acuerdo a Montesinos y Beltrá (*in* PHYTOMA, 2000) el viobar 3 de *A. tumefaciens* corresponde en la nueva nomenclatura a *A. vitis*.

3.3. Infection Mechanism – Pathogenicity

The plant disease known as Crown Gall, attacking a wide range of dicotyledons is provoked by *Agrobacterium tumefaciens*. The bacteria penetrate through plant lesions and induce the development of tumors in the crown of the plant by hypertrophy and cellular hyperplasia (Martínez, 2003).

Infection by *A. tumefaciens* requires appropriate conditions with a pH level from 5.0 to 5.8, with an optimum temperature between 24 and 28 °C, although infection can occur in temperatures ranging from 20 to 31 °C, and with the presence of phenolic substances of the plant cell (Mercado and Quezada, *in: Caballero*, 2001).

With the above conditions minuscule galls can appear in two to four weeks at temperatures above 20 °C, but below 32 °C, at which degree infection is inhibited. The development of tumors is inhibited at temperatures below 15 °C, at which the infection becomes latent until reactivation with a rise of temperature.

In terms of pH levels, according to López and Montesinos (*in: Phytoma*, 2000) the optimum level is 6.8, although populations thrive well at levels 6.8 and 8.4, slightly contrary to the data presented by Mercado and Quezada.

The bacteria carries out "genetic colonization" through the insertion of a sequence of its own genetic material, a DNA sequence of the bacterial plasmid "Ti," to the chromosomes of plant cells, making them transgenic. Because of this cell transformation, the tumor will continue to grow after the bacteria introduces the production of tumors, even in the absence of the bacteria.

The cell of *A. tumefaciens* contains a circular "Ti" plasmid that is related to the pathogenic power of the bacteria. This plasmid carries many genes, markedly those that ensure its own replication and those of the virulent genes responsible for Crown Gall disease. This plasmid is also a carrier of the DNA sequence

3.3. Mecanismo de Infección – Patogenidad

La enfermedad conocida como agalla de corona de las plantas (crown gall), que ataca a una amplia gama de especies dicotiledóneas, es provocada por *Agrobacterium tumefaciens*. La bacteria que penetra por heridas de la planta, induce el desarrollo de tumores en el cuello de la planta por hipertrofia e hiperplasia celular (Martínez, 2003)

El mecanismo de infección de *A. tumefaciens* requiere de condiciones adecuadas, un pH de 5.0 a 5.8, con una temperatura óptima de 24 a 28 °C, aun que es posible la infección a temperaturas de 20 a 31 °C; y la presencia de las substancias fenólicas de la célula vegetal (Mercado y Quezada, *in: Caballero*, 2001)

En estas condiciones, agallas minúsculas pueden aparecer entre 2 a 4 semanas, con temperaturas superiores a los 20 °C, pero inferiores a los 32 °C, temperatura sobre la cual se inhibe la infección. El desarrollo de los tumores también se inhibe a temperaturas menores de los 15 °C, convirtiéndose en una infección latente, que se reactivará con el ascenso de la temperatura.

En cuanto al nivel de pH, de acuerdo a López y Montesinos (*in: Phytoma*, 2000) indican que el pH óptimo del suelo es 6.8, aunque los niveles poblacionales pueden mantenerse bien entre pH de 6.8 y 8.4, contradiciéndose un poco con los valores expresados por Mercado y Quezada.

La bacteria recurre a una "colonización genética" mediante la inserción de una secuencia de su propio material hereditario, una secuencia de su DNA constituyente del plasmido bacterial "Ti" a un cromosoma de la célula vegetal, convirtiendo a estas en células transgénicas. Por esta razón luego que la bacteria ha inducido la producción tumoral, aun en ausencia de esta, el tumor sigue creciendo, debido a que sus células ya han sido transformadas.

La célula de *A. tumefaciens*, contiene un plasmido circular "Ti", que está relacionado con el poder patogénico de la bacteria. Este plasmido, lleva numerosos genes, notablemente aquellos que aseguran su propia replicación y los genes de virulencia responsables de la enfermedad de la Agalla de Corona. Este

that is transferred to plant cells, the T-DNA that, once in the host cells, is responsible for the production of opines, auxins, and cytokinins.

The bacteria penetrates through lesions only, adheres to the wounded cell and activates virulent genes that open a DNA sequence of the “Ti” plasmid, which is then transcribed into a single strand of T-DNA that is transported to the nucleus of the plant cell, where it is then integrated into the DNA of a chromosome of the plant. The T-DNA in the host cell then produces substances that ensure the particular metabolism of the bacteria the Opines, and the production of phytohormones, auxins and cytokinins, responsible for the tumorous multiplication of cells. In this way genetic colonization is carried out that obligates the plant to produce by genetic transformation (transgenic cells) the substances needed for bacteria that are not normally found in healthy cells (Semal, 1993).

For these reasons, the tumorous cells are “transgenic,” carrying in their genomes, within their chromosomes, a DNA sequence of the bacteria.

This mechanism is truly genetic colonization. On one hand, the plant is induced to produce opines which are indispensable for the metabolism of the bacteria as a source of carbon and nitrogen, ensuring its multiplication. On the other hand, the opines are a molecular aphrodisiac that stimulates the joining of *Agrobacterium tumefaciens* with *Agrobacterium radiobacter*, a saprophytic soil bacterium, transforming it into pathogenic bacteria. By ensuring its alimentation and multiplication, *A. tumefaciens* has a selective advantage over other bacteria.

This mechanism is actually used for human benefit through the creation of transgenic plants, using the *A. tumefaciens* bacteria as a natural agent in genetic engineering. For this reason, *Agrobacterium* has been named “The Colonizer of Colonizers” by Mercado and Quesada (Caballero, 2001).

plasmidio también es portador de la secuencia de DNA que será transferida a la célula del vegetal, el T-DNA, responsable ya en la célula del hospedante de la producción de opinas, auxinas y citoquininas.

La bacteria penetra solamente por heridas, se prende de la célula herida y se activan los genes de virulencia, los cuales abren una secuencia del DNA del plasmidio Ti, el cual es transcrita en una sola hebra de T-DNA que es transportado hacia el núcleo de la célula vegetal donde es integrado al DNA de un cromosoma de la planta. El T-DNA en la célula hospedera se expresa produciendo substancias que aseguran el propio metabolismo de las bacterias, las Opinas y la producción de fitohormonas, las auxinas y citoquininas, responsables de la multiplicación tumorosa de las células. De esta manera se produce la colonización genética obligando a la planta a producir substancias necesarias a las bacterias (que no se encuentran en células sanas) por una transformación genética (células transgénicas) (Semal, 1993)

Por esta razón las células tumorales son células “transgénicas”, puesto que llevan en su genoma, dentro de sus cromosomas una secuencia de DNA de la bacteria.

Este mecanismo es una verdadera colonización genética: por una parte induce a la planta a producir opinas, indispensables para el metabolismo de la bacteria tanto como fuente de carbono y nitrógeno asegurando su multiplicación, y por otra parte las opinas juegan un papel de afrodisíaco molecular, que favorece la conjugación de *Agrobacterium tumefaciens* con *Agrobacterium radiobacter*, bacteria saprofita habitante del suelo, transformándola en una bacteria patógena. De esta manera asegurando su alimento y su multiplicación, *A. tumefaciens* tiene una ventaja selectiva frente a otras bacterias.

Este mecanismo de acción es utilizado actualmente de forma beneficiosa por el hombre para lograr las plantas transgénicas, utilizando a la bacteria *A. tumefaciens* como un agente natural de la ingeniería genética. Por esta razón, Mercado y Quesada (Caballero, 2001) denominan a *Agrobacterium* “El colonizador

3.4. Investigative Background of *Agrobacterium spp.* for Tarija and Cochabamba

In order to become informed of past investigations of *Agrobacterium spp.* in the valleys of Tarija and Cochabamba, a search was done in the Agronomy and Biology Departments of the *Universidad Mayor de San Simón* in Cochabamba and the *Universidad Juan Misael Saracho* in Tarija, as well as in institutions and investigation centers related to the area of study.

3.4.1. Tarija.

In the city of Tarija a search was conducted in the Department of Agricultural and Forestry Sciences and in the database of the Phytopathology and *in vitro* Cultivation Laboratory of the *Universidad Autónoma Juan Misael Saracho*. The following results were obtained:

Research Studies and Dissertations in Agronomy from Tarija:

Dissertations on Crown Gall disease and *Agrobacterium spp.* were searched among a total of 338 dissertations from 1991 to 2002. None were found.

Among research studies, one titled “Diagnose, Mapping and Epidemiology of Vid (*Vitis vinifera*) diseases in the Central Valley of Tarija” (Martínez et al, 2003) reports the detection of this bacteria and the provocation of Crown Gall disease in Grape in the Santa Ana community of the Cercado Province of the Department of Tarija.

Phytopathology and *in vitro* Cultivation Laboratory Database

Data was found in the Phytopathology and *in vitro* Cultivation Laboratory database with regard to the detection of Crown Gall disease. This information is presented in Table N° 2.

Table N° 2

colonizado”

3.4. Antecedentes de Investigaciones sobre *Agrobacterium spp.* en Tarija y Cochabamba

Con el objeto de conocer investigaciones anteriores respecto a *Agrobacterium spp.* en los Valles de Tarija y Cochabamba, se realizó una búsqueda de estos documentos en las Facultades de Agronomía y Biología de las Universidades Mayor de San Simón en Cochabamba y Juan Misael Saracho en Tarija, además de Instituciones y centros de investigación relacionadas al área de estudio.

3.4.1. Tarija.

En la ciudad de Tarija, se buscó información en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales y en la Base de Datos del Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro* de la Universidad Autónoma Juan Misael Saracho, con los siguientes resultados:

Trabajos de Investigación y Tesis de Agronomía de Tarija:

Se buscaron tesis relacionadas a la Agalla de Corona y *Agrobacterium spp.*, en un total de 338 tesis desde la gestión 1991 hasta la gestión 2002, no encontrándose ningún trabajo relacionado.

Entre los trabajos de investigación, en el estudio “Diagnóstico, Zonificación y Epidemiología de las Enfermedades de la Vid (*Vitis vinifera*) en el Valle Central de Tarija” (Martínez et al, 2003) se reporta la detección de esta bacteria, causando la enfermedad de la Agalla de Corona en Vid, en la comunidad de Santa Ana, provincia Cercado del Departamento de Tarija.

Base de Datos Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro*

En esta base de datos sí se encontraron citas referentes a la detección de la Agalla de Corona, de acuerdo al detalle presentado en el Cuadro N° 2.

Cuadro N° 2

The Detection of *Agrobacterium tumefaciens* as found in the Database of the Phytopathology and *in vitro* Cultivation Laboratory of Tarija

Antecedentes de Detección de *Agrobacterium tumefaciens* en la Base de Datos Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro* en Tarija

Cultivo	Especie	Lugar	Fecha
Manzana	<i>Malus sylvestris</i>	Coimata – IBTA Incahuasi (Chuquisaca)	07/08/2001 - 20/01/2000
Duraznero	<i>Prunus persica</i>	Valle Central de Tarija	10/01/1998
Vid	<i>Vitis vinifera</i>	Cinti (Chuquisaca) Santa Ana – Kolbert Concepción	24/12/2000–10/08/2001–02/2003
Zarzamora	<i>Rubus sp.</i>	San Luís	18/09/2003

Fuente: Base de Datos de Enfermedades. : Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro*

Crop	Species	Place	Fecha
Apple	<i>Malus sylvestris</i>	Coimata – IBTA Incahuasi (Chuquisaca)	07/08/2001 - 20/01/2000
Peach	<i>Prunus persica</i>	Central Valley of Tarija	10/01/1998
Grape	<i>Vitis vinifera</i>	Cinti (Chuquisaca) Santa Ana – Kolbert Concepción	24/12/2000–10/08/2001–02/2003
Berries	<i>Rubus sp.</i>	San Luís	18/09/2003

Source: Diseases Database, Phytopathology Laboratory and *in vitro* Crops

3.4.2. Cochabamba.

In the city of Cochabamba a search was carried out in the “Martín Cárdenes”, Department of Agricultural Sciences and in the Department of Biology of *Universidad Mayor de San Simón*, as well as in PROINPA and with Mary Quitón, a specialist in Phytopathology.

Agronomy Dissertations from Cochabamba.

A search was done of dissertations from the Department of Agronomy. Among the list of available dissertations four were found that referred to Crown Gall disease or to *Agrobacterium spp.*. These dissertations are cited as follows, with references to their list number and library identification number:

- 619.- Guzman Baeny, Tania. “Estrategias de control para agalla de corona y tiro de munición en durazneros” (Strategies for the Control of Crown Gall and Shot Holes in Peach Cultivations). 1997. (T-97 G993t)
- 773.- Ruiz Cordova, Judith. “Incidencia y severidad y control de agalla de corona en viveros de duraznero de la EE. de San Benito” (Incidence, Severity, and Control of Crown Gall in Peach Nurseries of San Benito). 1998. (T-98 R934j)
- 619.- Guzman Baeny Tania. Estrategias de control para agalla de corona y tiro de munición en durazneros. Tesis 1997. (T-97 G993t)
- 773.- Ruiz Cordova Judith. Incidencia y severidad y control de agalla de corona en viveros de duraznero de la EE. de San Benito. Tesis 1998. (T-98 R934j)

3.4.2. Cochabamba.

En la ciudad de Cochabamba se buscó información en la Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias “Martín Cárdenes”, y la Facultad de Biología de la Universidad Mayor de San Simón, en PROIMPA y con la Ing. Mary Quitón, especialista en Fitopatología.

Tesis de Agronomía en Cochabamba.

Se buscaron tesis relacionadas en la carrera de Agronomía, en sus listas disponibles, se detectaron 4 tesis referente a la Agalla de Corona o *Agrobacterium spp.*, las mismas que son citadas a continuación, indicando el número del listado y su clave de identificación de la biblioteca:

R934j)

- 779.- Soto Pérez, John Paul. “*Incidencia y severidad de agalla de corona en el duraznero en el valle alto de CBBA*” (Incidence and Severity of Crown Gall in Peach Cultivations in the High Valley of Cochabamba). 1998. (T-98 S718j)
- 787.- Viedma Soliz, Raul. “*Control integrado de agalla de corona en vivero y plantas jóvenes de durazno*” (Integrated Control of Crown Gall in Peach Nurseries and Young Plants). 1998. (T-98 V656r)
- 779.- Soto Pérez John Paul. Incidencia y severidad de agalla de corona en el duraznero en el valle alto de CBBA. Tesis 1998. (T-98 S718j)
- 787.- Viedma Soliz Raul. Control integrado de agalla de corona en vivero y plantas jóvenes de durazno. Tesis 1998. (T-98 V656r)

In her research/dissertation, Ruiz (1998) confirmed a high incidence level of *Agrobacterium tumefaciens* in the nursery of San Benito. The dissertations of Guzmán (1998) and Viedma (1998) corroborate the presence of this pathogen in Cochabamba.

The most illuminating dissertation for this study, however, is that of Soto Pérez (1998). This study indicates the presence of Crown Gall attacking peach cultivations in the High Valley (*Valle Alto*) of Cochabamba and points out the different levels of incidence of this disease.

Among the conclusions and results of the study, Soto Pérez (1998) writes:

Conclusion 3: “Crown Gall is a disease that is found in all peach orchards in the High Valley of the Department of Cochabamba, especially in the Provinces of Esteban Arce (Tarata), Germán Jordán (Cliza), and Punata”

The investigation of Soto Pérez (1998) was carried out from 1993 to 1994 among nine orchards, including two nurseries, in seven communities of Tarata, Cliza, and Punata. The following are the levels of incidence of Crown Gall disease:

Incidence in Nurseries: Cliza 5.91% and Punata 6.77%;

En el trabajo de investigación – tesis, de Ruiz C. J. (1998) confirman el alto nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens* en el vivero de San Benito, al igual que las tesis de Guzmán B. T. (1997) y Viedma S. R. (1998) que corroboran en indicar la presencia de este patógeno en Cochabamba.

Sin embargo el trabajo de tesis más revelador, para fines de la presente investigación, es el de Soto Pérez J. P. (1998) donde además de indicar la presencia de la Agalla de Corona en el Valle Alto de Cochabamba, atacando al Duraznero, señala los diferentes grados de incidencia de la enfermedad.

Entre las principales conclusiones y resultados Soto Pérez J. P. (1998), señala:

Conclusión 3: “La Agalla de Corona es una enfermedad que se presenta en todos los huertos de duraznero en el Valle Alto del Departamento de Cochabamba, especialmente en las provincias Esteban Arce (Tarata), Germán Jordán (Cliza) y Punata”

La investigación de Soto Pérez J. P. (1998) desarrollada entre los años 1993 y 1994, en Tarata, Cliza y Punata, dentro de 9 huertos, incluyendo 2 viveros y en 7 comunidades, de donde se destacan los siguientes resultados del nivel de Incidencia de la enfermedad de la Agalla de Corona:

Incidencia en Viveros: Cliza 5.91% y Punata 6.77%;

Incidence in Orchards: Tarata 40%; Cliza 35%, and Punata 5%.

A copy of this research paper is attached as one of the annex documents.

Biology Dissertations from Cochabamba.

A search was done of dissertations from the Department of Biology, from available lists. None was found related to Crown Gall or *Agrobacterium spp.*

PROINPA

Through the professional attention of PROINPA, David Villarroel and Jorge Blajos indicated that although PROINPA did not have any research studies related to the topic, they could refer us to two studies in the control of *Agrobacterium* that were carried out in the Research Station of San Benito and, for further information, to Mary Quitón, a phytopathology expert with extensive experience in Cochabamba.

- Mario, Jaimes. “Control de *Agrobacterium* en San Benito” (Control of *Agrobacterium* in San Benito).
- Daniel, Avila. “Control de *Agrobacterium* con estiércol” (Control of *Agrobacterium* with Manure). (Master’s thesis).

Mary Quitón

It was only possible to communicate by phone with this engineer. She indicated that she had no personal experience related to the present topic, but that there have been studies in the area. These studies are as follows:

- Collection *Agrobacterium tumefaciens* strains in peach production zones. Study by IBTA – San Benito under the direction of Dr. McKing of the United States and Ms. Quitón.

Incidencia en Huertos: Tarata 40%; Cliza 35% y Punata 5%.

Una copia de este trabajo de investigación se presenta como documento anexo.

Tesis de Biología en Cochabamba.

Se buscaron tesis relacionadas en la carrera de Biología, en sus listas disponibles, no encontrándose ninguna tesis referente a la Agalla de Corona o *Agrobacterium spp.*

PROINPA

Gracias a la atención de profesionales de esta institución, el Ing. David Villarroel y el Ing. Jorge Blajos, se nos informó que si bien en PROINPA no existen trabajos de investigación relacionados a este estudio, se nos dio dos referencias de trabajos dirigidos al control de *Agrobacterium* realizados en la Estación Experimental de San Benito y como referencia válida para buscar más información a la Ing. Mary Quitón, especialista en Fitopatología, con amplia experiencia de trabajo en Cochabamba.

- Mario Jaimes. Control de *Agrobacterium* en San Benito.
- Daniel Avila. Control de *Agrobacterium* con estiércol. (tesis de maestría)

Ing. Mary Quitón

Solo nos fue posible comunicarnos telefónicamente con esta ingeniera, la cual nos indicó que ella personalmente no cuenta con ningún trabajo de investigación referente al tema, sin embargo, nos señaló que sí existen investigaciones anteriores, con el siguiente detalle:

- Recolección de cepas de *Agrobacterium tumefaciens* en zonas productoras de Durazno. Investigación realizada por el IBTA – San Benito, bajo la dirección del Ph. D. McKing, de los Estados Unidos y la Ing. Mary Quitón.

Engineer Quitón did not have a copy of this work, which was catalogued in IBTA – San Benito. Unfortunately, this institution is closed, and Ms. Quitón did not know where else the document could be found. We looked for the document by other means, but could not find it.

Ms. Quitón stated that the investigation detected three *Agrobacterium tumefaciens* strains throughout Bolivia, especially in the Department of Cochabamba. These strains were isolated mostly in Peach and Grape.

- Biological Control with *Agrobacterium radiobacter*. This study is not actually a research work, but rather presents a method for controlling *A. tumefaciens* used for various years in Cochabamba, especially among rose producers.

Ms. Quitón indicated that in the coming months new strains of *A. radiobacter* would arrive from Chile for use as a biological control.

We wish to express our regret regarding the lack and loss of information from studies and investigations that are done in our country, which are catalogued to later be lost. In conclusion, there is no documentation available.

Sin embargo la profesional no contaba con una copia de este trabajo, y que este documento estaba en el IBTA – San Benito, pero como lamentablemente actualmente se encuentra cerrado, ella no sabía dónde se podría buscar este documento. Aun que nosotros intentamos buscar este documento por otros medios, nos fue imposible dar con él.

Sobre esta investigación, la ingeniera nos comunicó que se detectaron 3 cepas de *Agrobacterium tumefaciens* en todo Bolivia, en especial en el Departamento de Cochabamba. Las cepas fueron aisladas principalmente de Duraznero y Vid.

- Control Biológico con *Agrobacterium radiobacter*, que no se trata en sí de un trabajo de investigación, pero que es un método para el control de *A. tumefaciens* utilizado desde hace ya varios años en Cochabamba, especialmente por los productores de Rosas.

Ella misma indica que en los próximos meses le llegarán nuevas cepas de *A. radiobacter* de Chile, para ofrecer como mecanismo de control biológico.

Deseamos expresar nuestro pesar por la falta y pérdida de información, de estudios e investigaciones realizadas en nuestro país, pero que lamentablemente, luego de realizarlas, son primero archivadas para luego ser perdidas, pero que finalmente no existe documentación disponible.

From the information gathered, though scarce in some cases, it is clear that the pathogen *Agrobacterium tumefaciens* is present in Bolivia in the valleys of Cochabamba and Tarija and has been present for many years. These facts confirm the ubiquitous nature of the disease, or its worldwide distribution, and its polyphasic nature, attacking a wide range of cultivations.

IV. RESULTS OF THE INVESTIGATION AND THEIR ANALYSIS

4.1. Determination of the Presence of *Agrobacterium spp.*

The present study determined the presence of *Agrobacterium tumefaciens* in the study zones through an investigation of 10 communities, 8 from Tarija and 2 from Cochabamba, in which 36 farms and 8 different crops were evaluated for a total of 75 evaluations (See description in Annex N° 3). The results of this study are presented in Table N° 3.

Table N° 3

Detection of *Agrobacterium tumefaciens* by Community and by Cultivation

Comunidad	Cultivos	Presencia de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>
TARIJA		
Tomatas Grande	Frambuesa	Positivo
	Zarzamora	Positivo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Positivo
Canasmoro	Frambuesa	Negativo
	Zarzamora	Negativo
	Durazno	Negativo
	Manzano	Positivo
Tarija Cancha	Frambuesa	Positivo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Positivo
	Frutilla	Negativo
Sella Méndez	Frambuesa	Negativo
	Zarzamora	Negativo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Positivo
	Vid	Positivo
	Ciruelo	Positivo
Rancho Norte	Frambuesa	Positivo
	Zarzamora	Negativo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Positivo
Rancho Sud	Frambuesa	Positivo
	Zarzamora	Positivo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Negativo

A partir de la información recolectada, aun que escasa en algunos casos, está claro que este patógeno, *Agrobacterium tumefaciens*, está presente en Bolivia, en los Valles de Cochabamba y Tarija desde muchos años atrás, confirmando su característica ubiquiste o de distribución mundial de este patógeno y su característica polífaga, atacando a una gran gama de cultivos.

IV. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Determinación de la Presencia de *Agrobacterium spp.*

Los resultados obtenidos en la presente investigación, en la determinación de la presencia de *Agrobacterium tumefaciens*, en las zonas de estudio, son presentados en el cuadro N° 3, a partir del monitoreo de 10 comunidades, 8 de Tarija y 2 de Cochabamba, donde se evaluaron 36 fincas y 8 cultivos diferentes, realizándose en total 75 evaluaciones (ver detalle en Anexo N° 3)

Cuadro N° 3

Detección de *Agrobacterium tumefaciens*, por Comunidad y por Cultivo

Equis Ceibal	Frambuesa	Negativo
	Durazno	Negativo
	Manzano	Positivo
	Ciruelo	Positivo
San Luís	Frambuesa	Negativo
	Zarzamora	Positivo
	Durazno	Positivo
	Manzano	Positivo
	Vid	Positivo
COCHABAMBA		
Tuscapugio	Frambuesa	Negativo
	Zarzamora	Positivo
	Manzano	Positivo
	Vid	Negativo
	Damasco	Positivo
Huayllani Chico	Frambuesa	Negativo
	Zarzamora	Positivo
	Manzano	Negativo
	Ciruelo	Positivo
	Damasco	Positivo

Nota: El detalle de las parcelas analizadas, y los resultados obtenidos por parcela son presentados en el Anexo No. 4

Community	Crops	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Presence
TARIJA		
Tomatas Grande	Raspberry	Positive
	Blackberry	Positive
	Peach	Positive
	Apple	Positive
Canasmoro	Raspberry	Negative
	Blackberry	Negative
	Peach	Negative
	Apple	Positive
Tarija Cancha	Raspberry	Positive
	Peach	Positive
	Apple	Positive
	Strawberry	Negative
Sella Méndez	Raspberry	Negative
	Blackberry	Negative
	Peach	Positive
	Apple	Positive
	Grape	Positive
	Plumb	Positive
Rancho Norte	Raspberry	Positive
	Blackberry	Negative
	Peach	Positive
	Apple	Positive
Rancho Sud	Raspberry	Positive
	Blackberry	Positive
	Peach	Positive
	Apple	Negative
Equis Ceibal	Raspberry	Negative
	Peach	Negative
	Apple	Positive
	Plumb	Positive
San Luís	Raspberry	Negative
	Blackberry	Positive
	Peach	Positive
	Apple	Positive
	Grape	Positive
COCHABAMBA		
Tuscapugio	Raspberry	Negative
	Blackberry	Positive
	Apple	Positive
	Grape	Negative
	Apricot	Positive
Huayllani Chico	Raspberry	Negative

	Blackberry	Positive
	Apple	Negative
	Plumb	Positive
	Apricot	Positive

Note: The detail of the analyzed plots of land, and the obtained results by plot of land are presented in Annex No. 4

As can be observed in the preceding table, the presence of *Agrobacterium tumefaciens*, which causes Crown Gall disease, was detected in all study communities in both the Department of Tarija and the Department of Cochabamba, confirming the widespread distribution of this pathogen.

In terms of the detection of *Agrobacterium tumefaciens* by crops, the bacteria was detected in 7 of 8 crops analyzed, presenting positive through the presence of galls and tumors in Raspberry, Blackberry, Peach, Apple, Grape, Plum, and Apricot, and negative only in Strawberry.

It must be clarified that the present research work does not differentiate between *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rubi* due to the fact that both species cause the same symptoms in the *Rubus* species of Raspberry and Blackberry and that both pathogens can cause Crown Gall disease (or Cane Gall) in both *Rubus* species.

The results of the determination of *Agrobacterium rhizogenes*, the pathogen causing Root Proliferation, are shown in Table Nº 4.

Table Nº 4

Detection of *Agrobacterium rhizogenes* by Community and by Crop

Como se puede observar en el cuadro precedente, se detectó la presencia de *Agrobacterium tumefaciens*, causando la enfermedad de la Agalla de Corona, en todas las comunidades en estudio, tanto en el Departamento de Tarija como en el Departamento de Cochabamba, confirmando su distribución generalizada de este patógeno.

En cuanto a la detección de *Agrobacterium tumefaciens* por cultivos, esta fue detectada en 7 de los 8 cultivos analizados, dando positivo por la presencia de agallas y tumores en: Frambuesa, Zarzamora, Durazno, Manzano, Vid, Ciruelo y Damasco; y siendo negativo únicamente en Frutilla.

Debemos aclarar que en el presente trabajo de investigación, no se diferencia entre *Agrobacterium tumefaciens* y *Agrobacterium rubi*, debido a que ambas especies causan el mismo síntoma en las especies de *Rubus*, Frambuesa y Zarzamora, y ambas especies patógenas pueden causar la enfermedad de la agalla de corona (o agalla de la caña) en ambas especies de *Rubus*.

En cuanto a la determinación de la presencia de *Agrobacterium rhizogenes*, patógeno causante de la Proliferación de Raíces, los resultados son mostrados en el cuadro Nº 4.

Cuadro Nº 4

Detección de *Agrobacterium rhizogenes*, por Comunidad y por Cultivo

Comunidad	Detección Positiva de <i>Agrobacterium rhizogenes</i> por Cultivo
TARIJA	
Tomatas Grande	Manzana
Canasmoro	Manzana
Tarija Cancha	Manzana
Sella Méndez	Manzana Durazno
Rancho Norte	Manzana
Rancho Sud	Manzana
Erquis Ceibal	Manzana Ciruelo
San Luís	Manzana
COCHABAMBA	
Tuscapugio	
Huayllani Chico	Manzana

Nota: Solo se muestran los resultados de aquellos cultivos que dieron positive a *Agrobacterium rhizogenes*.

Community	Positive Detection of <i>Agrobacterium rhizogenes</i> by Crops
TARIJA	
Tomatas Grande	Manzana
Canasmoro	Manzana
Tarija Cancha	Manzana
Sella Méndez	Manzana Durazno
Rancho Norte	Manzana
Rancho Sud	Manzana
Erquis Ceibal	Manzana Ciruelo
San Luís	Manzana
COCHABAMBA	
Tuscapugio	
Huayllani Chico	Manzana

Note: The results shown in this graph only show the crops that tested positive for *Agrobacterium rhizogenes*.

As can be observed in the preceding table, *A. rhizogenes*, which causes Root Proliferation, was detected in 8 communities studied in Tarija and only one in Cochabamba. Therefore, of the total communities studied, only Tuscapugio did not present this pathogen.

Among the cultivation species analyzed, *A. rhizogenes* was detected mostly in Apple, and in a lesser degree in Peach and Plum cultivations, confirming the preference of this pathogen for apple cultivations.

4.1.1. Phytopathology Laboratory Analysis

Part of the samples, tumorous tissues or galls from symptomatic plants, were taken to a phytopathology Laboratory for confirmation of

Como se observa en el cuadro precedente, *A. rhizogenes*, fue detectado causando la Proliferación de Raíces, en las 8 comunidades estudiadas de Tarija y en solo una comunidad de Cochabamba, por lo tanto, del total de comunidades estudiadas, únicamente no se detectó este patógeno en Tuscapugio.

Entre las especies cultivables analizadas, *A. rhizogenes* fue detectada principalmente en el Manzano, y en menor grado en Duraznero y Ciruelo, confirmando la preferencia de este patógeno por el Manzano.

4.1.1. Análisis Fitopatológico de Laboratorio

Parte de las muestras, consistentes en los tejidos tumorales o agallas de las plantas detectadas con el síntoma, fueron llevadas al Laboratorio de

the pathology.

Histological analysis was done by microscope in the laboratory. In this process histological cuts were made in the affected tissues, and they were observed under the microscope. All cases analyzed showed symptoms of hyperplasia and cellular hypertrophy in the tumorous tissue, consisting of excessive, abnormal cell multiplication and cell enlargement due to the abnormal over-production of phytohormones introduced by the bacteria, thus creating tumors or galls. This analysis confirmed the infection and that the cause of the disease was *Agrobacterium tumefaciens*.

4.1.2. Photographic Summary.

The following pages present a photographic summary of Crown Gall samples.

Fitopatología, para confirmar la patología.

El análisis realizado en el Laboratorio fue de tipo histológico por microscopía directa. Para esto se realizaron cortes histológicos del tejido afectado y se observó al microscopio, demostrándose en todos los casos los síntomas de hiperplasia e hipertrofia celular en los tejidos tumorales, consistentes en la multiplicación excesiva, anormal de las células y el agrandamiento de las mismas, a causa de la sobreproducción anormal de fitohormonas inducida por la bacteria, lo cual conduce al desarrollo de los tumores o agallas. De esta manera se comprobó la infección y causa de la enfermedad por *Agrobacterium tumefaciens*.

4.1.2. Resumen Fotográfico.

En las páginas a continuación, se presenta un resumen fotográfico de las muestras de la Agalla de Corona.



Agalla de Corona en Duraznero
“Crown Gall” in a Peach Tree



Plantines de Ciruelo con Agallas
Plumb Seedlings with “Galls”



Agalla de Corona en Manzano
“Crown Gall” in an Apple Tree



Agalla de Corona en Vid
“Crown Gall” in Grape



Agallas extraídas de Zarzamora
“Galls” extracted from Raspberries

4.2. Level of Incidence of Crown Gall

The level of incidence, expressed as the percentage of affected or symptomatic plants over the total number of plants evaluation, is presented in Table N° 5 (next page).

The levels of incidence presented are those obtained by community and by crop. By simple arithmetic the percentage of incidence per community per crop, was calculated on the basis of 75 evaluations carried out in 8 different crops among 36 farms in the 10 communities under research.

A description of the evaluations by community, farm owner and cultivation, are presented in Annex N° 4. This document presents the number of plants evaluated by plot and repetition, the number of affected plants, an estimation of the total number of plants in the plot, and general observations.

The calculation of the mean or average did not take into account plants in nursery bags, since they were transported from other nurseries and did not represent the real incidence of the plot of land under research.

Table No. 5

Level of Average INCIDENCE of Crown Gall caused by *Agrobacterium tumefaciens* by Crop and by Community

4.2. Nivel de Incidencia de la Agalla de Corona

El nivel de Incidencia, expresado como porcentaje de plantas afectadas o sintomáticas sobre el total de plantas evaluadas, es presentado en el cuadro N° 5 (hoja continua).

Los niveles de Incidencia presentados, son niveles promedios obtenidos en cada comunidad y por cada cultivo, por simple media aritmética del porcentaje de Incidencia de cada cultivo por comunidad; a partir de 75 evaluaciones, realizadas en 8 cultivos diferentes y en 36 fincas de las 10 comunidades en estudio.

El detalle de las evaluaciones, por comunidad, propietario de la finca y cultivo, son presentadas en el Anexo N° 4, donde se indica el número de plantas evaluadas por parcela y repeticiones, el número de plantas afectadas, una estimación del total de plantas de la parcela y observaciones generales.

Para la obtención de la media o promedio no se contempló las plantas en bolsa de vivero, puesto que estas fueron transportadas de otros viveros y no representan la incidencia real de la parcela en estudio.

Cuadro No. 5

Nivel de INCIDENCIA Promedio de la Agalla de Corona causado por *Agrobacterium tumefaciens* por Cultivo y por Comunidad

Comunidad	Crops								Incidencia Promedio por Comunidad
	Frambuesa	Zarzamora	Durazno	Manzano	Vid	Ciruelo	Damasco	Frutilla	
TARIJA									
Tomatas Grande	0,40%	1,82%	2,50%	37,25%					10,49%
Canasmoro	0,00%	0,00%	0,00%	7,71%					1,93%
Tarija Cancha	3,00%		8,50%	9,41%				0,00%	5,23%
Sella Méndez	0,00%	0,00%	5,50%	1,93%	5,33%	28,57%			6,89%
Rancho Norte	0,17%	0,00%	2,50%	9,09%					2,94%
Rancho Sud	0,50%	1,67%	7,88%	0,00%					2,51%
Erquis Ceibal	0,00%		0,00%	23,57%		2,50%			6,52%
San Luís	0,00%	4,17%	5,14%	5,00%	2,22%				3,31%
COCHABAMBA									
Tuscapugio	0,00%	11,11%		40,00%	0,00%		66,67%		23,56%
Huayllani	0,00%	4,00%		0,00%		28,57%	33,33%		13,18%

Chico									
Incidencia Promedio por Culivo	0,41%	2,85%	4,00%	13,40%	2,52%	19,88%	50,00%	0,00%	

Community	Crops								Average Impact by Community
	Raspberry	Blackberry	Peach	Apple	Grape	Plumb	Apricot	Strawberry	
TARIJA									
Tomatas Grande	0.40%	1.82%	2.50%	37.25%					10.49%
Canasmoro	0.00%	0.00%	0.00%	7.71%					1.93%
Tarija Cancha	3.00%		8.50%	9.41%				0.00%	5.23%
Sella Méndez	0.00%	0.00%	5.50%	1.93%	5.33%	28.57%			6.89%
Rancho Norte	0.17%	0.00%	2.50%	9.09%					2.94%
Rancho Sud	0.50%	1.67%	7.88%	0.00%					2.51%
Erquis Ceibal	0.00%		0.00%	23.57%		2.50%			6.52%
San Luís	0.00%	4.17%	5.14%	5.00%	2.22%				3.31%
COCHABAMBA									
Tuscapugio	0.00%	11.11%		40.00%	0.00%		66.67%		23.56%
Huayllani Chico	0.00%	4.00%		0.00%		28.57%	33.33%		13.18%
Average Impact by Crop	0.41%	2.85%	4.00%	13.40%	2.52%	19.88%	50.00%	0.00%	

As a way of focusing results in order to then engage in their analysis, Table N° 6 presents average levels of incidence by community.

A manera de centrar más los resultados, para ingresar a un análisis posterior, en el cuadro N° 6, se presentan los niveles promedios de Incidencia por Comunidad.

Table N° 6

Relative Classification of Communities By Incidence Levels of *Agrobacterium tumefaciens*

Cuadro N° 6

Clasificación relativa de las Comunidades por el Nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens*

Comunidad	Porcentaje Incidencia	Clasificación Relativa
TARIJA		
Tomatas Grande	10,49%	1
Sella Méndez	6,89%	2
Erquis Ceibal	6,52%	3
Tarija Cancha	5,23%	4
San Luís	3,31%	5
Rancho Norte	2,94%	6
Rancho Sud	2,51%	7
Canasmoro	1,93%	8
COCHABAMBA		
Tuscapugio	23,56%	1
Huayllani Chico	13,18%	2

Community	Impact Percentage	Relative Classification
TARIJA		
Tomatás Grande	10,49%	1
Sella Méndez	6,89%	2
Erquis Ceibal	6,52%	3
Tarija Cancha	5,23%	4
San Luis	3,31%	5
Rancho Norte	2,94%	6
Rancho Sud	2,51%	7
Canasmoro	1,93%	8
COCHABAMBA		
Tuscapugio	23,56%	1
Huayllani Chico	13,18%	2

Of the results presented in the preceding table, it can be observed that, in the first place, the levels of incidence of Crown Gall in both of the communities of Cochabamba are higher than those in Tarija.

Within the Department of Tarija the greatest incidence of Crown Gall was in Tomatas Grande, which was followed by a more or less homogenous group formed by the communities of Sella Méndez, Erquis Ceibal, and Tarija Cancha, and then by, as a final group, the communities of San Luis, Rancho Norte, Rancho Sur, and Canasmoro.

These results and differences in incidence levels among communities are better visualized in Graph N° 1.

Graph N° 1

Level of Incidence of *Agrobacterium tumefaciens* by Community

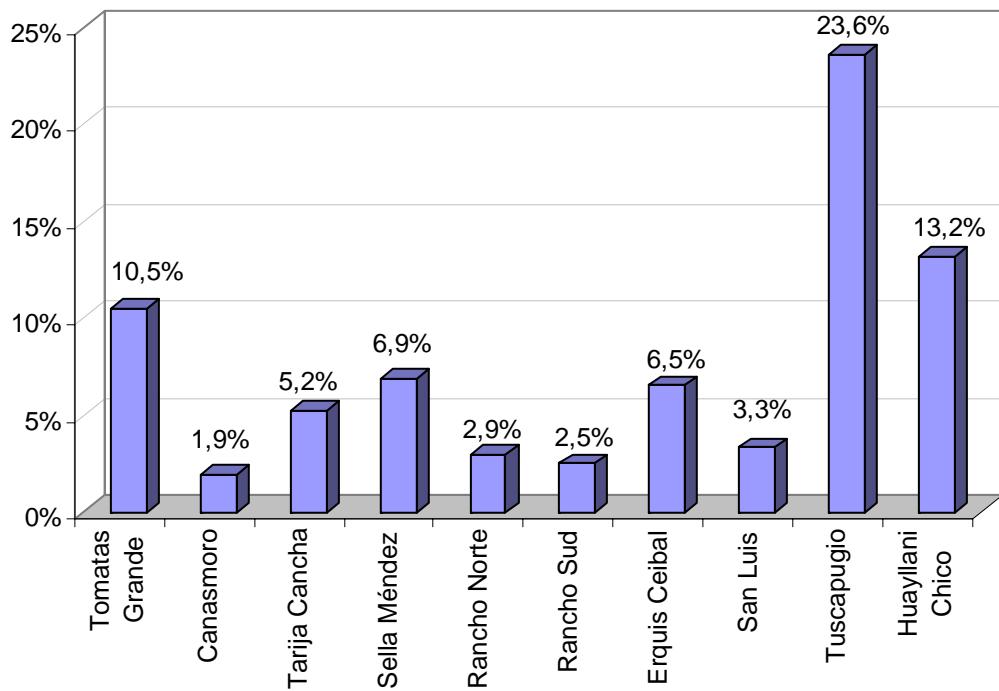
De los resultados expuestos en el cuadro precedente, se puede destacar en primer lugar, que los niveles de Incidencia de la Agalla de Corona obtenidos en ambas comunidades de Cochabamba son superiores a los niveles de Incidencia de esta enfermedad en Tarija.

Entre tanto, ya dentro del Departamento de Tarija, la mayor Incidencia de la Agalla de Corona se presentó en Tomatas Grande, seguido por un grupo más o menos homogéneo de las comunidades de Sella Méndez, Erquis Ceibal y Tarija cancha, para ubicarse en un grupo final, con menor nivel de Incidencia las comunidades de San Luis, Rancho Norte, Rancho Sur y Canasmoro.

Estos resultados y las diferencias del nivel de Incidencia por Comunidad pueden ser mejor visualizados en el Grafico N° 1.

Gráfico N° 1

Nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens* por Comunidad



After analyzing the results and the differences of Level of Incidence of Crown Gall by Community, the following Graph No. 7 shows the average results of the Level of Incidence by Crop.

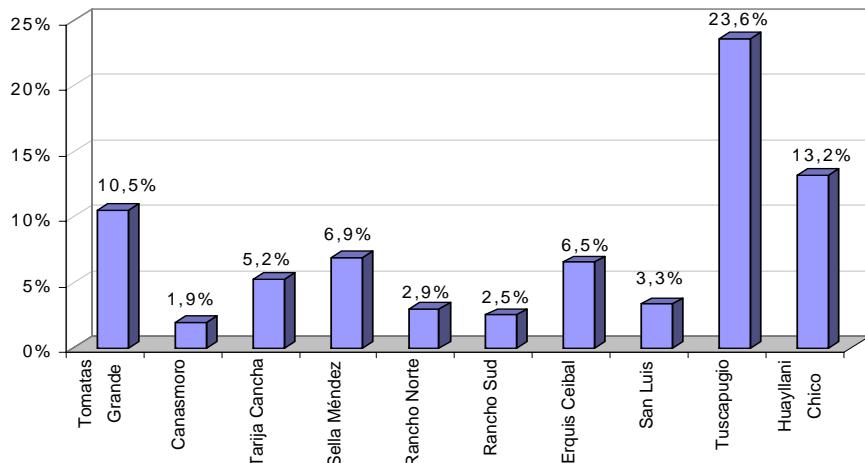
Graph No. 7

Relative classification of Crops due to the Level of Incidence of *Agrobacterium tumefaciens*

Luego de analizar los resultados y las diferencias del Nivel de Incidencia de la Agalla de Corona por Comunidad, a continuación presentamos en el Cuadro No. 7, los resultados promedio del Nivel de Incidencia por Cultivo.

Cuadro No. 7

Clasificación relativa de los Cultivos por el Nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens*



Having analyzed the results and the different incidence levels of Crown Gall by community, Table N° 7 is presented below, showing average incidence levels per cultivation.

Table N° 7

Relative Classification of Cultivations By the levels of incidence of *Agrobacterium tumefaciens*

Cultivo	Porcentaje Incidencia	Clasificación Relativa
Damasco	50,00%	1
Ciruelo	19,88%	2
Manzano	13,40%	3
Durazno	4,00%	4
Zarzamora	2,85%	5
Vid	2,52%	6
Frambuesa	0,41%	7
Frutilla	0,00%	

Crop	Impact Percentage	Relative Classification
Apricot	50,00%	1
Plumb	19,88%	2
Apple Tree	13,40%	3
Peach	4,00%	4
Blackberry	2,85%	5
Grape	2,52%	6
Raspberry	0,41%	7
Strawberry	0,00%	

To better visualize results, Graph N° 2 follows and shows differences in incidence levels of *Agrobacterium tumefaciens* by crop or by plant species studied.

Graph N° 2

Incidence Levels of *Agrobacterium tumefaciens* by Crop

Luego de analizar los resultados y las diferencias del Nivel de Incidencia de la Agalla de Corona por Comunidad, a continuación presentamos en el cuadro N° 7, los resultados promedio del Nivel de Incidencia por Cultivo.

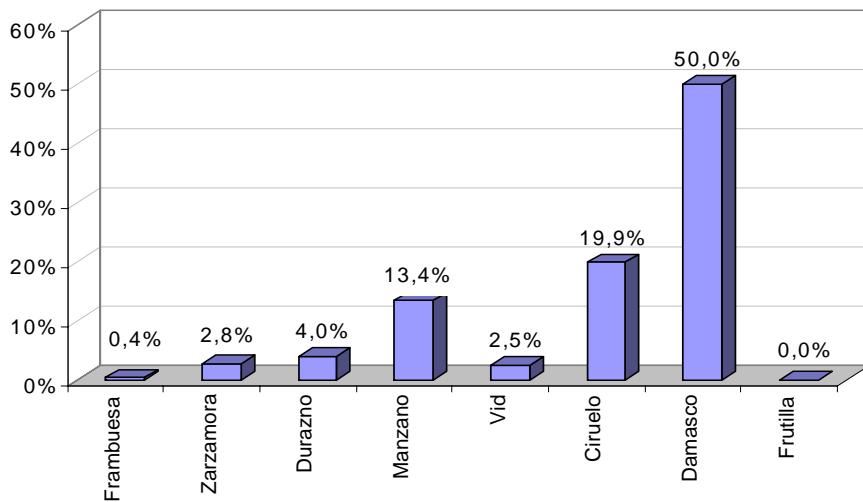
Cuadro N° 7

Clasificación relativa de los Cultivos por el Nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens*

Igualmente para mejor visualizar estos resultados, a continuación en el Gráfico N° 2, se presentan las diferencias del nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens* por cultivo o especie vegetal estudiada.

Gráfico N° 2

Nivel de Incidencia de *Agrobacterium tumefaciens* por Cultivo



From the results presented in Table N° 7 and Graph N° 2 we can see that the most affected crop is that of Peach, although this conclusion is based on the incidence average from two plots of land studied, both in Cochabamba. Plum follows, although this conclusion is also based on results from only three plots of land.

Subject of a larger quantity of evaluations in this study, from fifteen plots, Apple is the species most affected by *A. tumefaciens*, as well as by *A. rhizogenes*. Following in order of relative importance is Apple, in terms of incidence levels are Peach, Blackberry, Grape, and Raspberry, with the latter being the least infected.

Although Strawberry was evaluated only once, it did not show an attack of *A. Tumefaciens*. Strawberry, though susceptible to artificial infections, is rarely naturally infected by this pathogen.

Having analyzed levels of incidence by community and by crop, it is important to emphasize the impact on some crops like Apricot and Plum in terms of the elevated general percentage of incidence in the communities of Cochabamba, and also to point out the high levels of incidence in Apple, involving almost all

De los resultados presentados en el Cuadro N° 7 y el Gráfico N° 2, podemos observar que el cultivo más afectado es el Damasco, aun que este solo representa el promedio de 2 parcelas evaluadas, ambas en Cochabamba. Luego se presenta el Ciruelo, aun que también mostrando resultados solo de 3 parcelas.

Ya con un número mayor de evaluaciones, con 15 parcelas, el Manzano se presenta como la especie más afectada por *A. tumefaciens*, al igual que fue la especie preferida por *A. rhizogenes*. Luego en orden de importancia relativo, en función al nivel de Incidencia, se encuentra el Duraznero, la Zarzamora, la Vid y finalmente como la especie menos afectada la Frambuesa.

Aun que de la Frutilla se realizó una sola evaluación, en esta no se detectó el ataque de *A. tumefaciens*, pues la Frutilla es muy raramente infectada de manera natural por este patógeno, aun que sí es susceptible por infecciones artificiales.

Luego de analizar los resultados del nivel de Incidencia por comunidad y por cultivo, es importante destacar la influencia de algunos cultivos como del Damasco y Ciruelo, en el porcentaje general de Incidencia, en especial elevando este nivel promedio para las comunidades de Cochabamba y luego la alta

communities studied.

For this reason, it is important that analysis consider not only the average percentage of incidence per community but also the impact on the various crops analyzed.

As for species of the *Rubus* genus, Blackberry stands out as being more susceptible than Raspberry, although, as already mentioned, both are susceptible to attacks from *A. tumefaciens* and *A. rubi*, resulting in symptoms of galls in the canes, crown, and roots.

4.3. Mapping of *Agrobacterium tumefaciens*.

Using the results from the incidence level evaluation by community, a map was drawn up differentiating degrees of incidence for each community. Nevertheless, it must be kept in mind that the disease was detected in all study plots. See Map N° 3.

influencia general del nivel de Incidencia del Manzano, que afecta a casi todas las comunidades estudiadas.

Por esta razón para todo análisis será importante no solo considerar el porcentaje promedio de incidencia por comunidad, si no la influencia de los diferentes cultivos analizados.

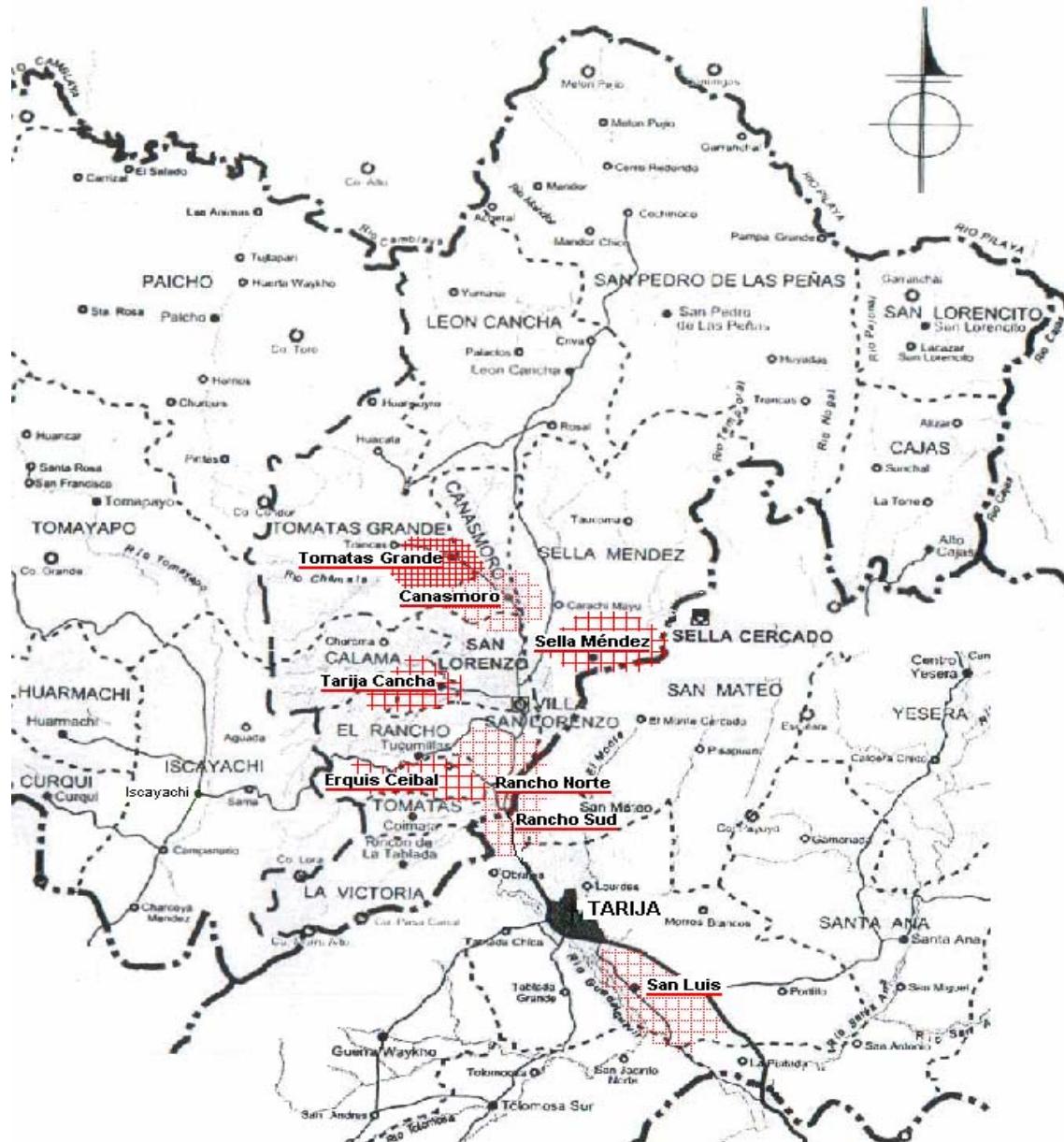
En cuanto a las especies del género *Rubus*, se destaca que la Zarzamora parece ser más susceptible que la Frambuesa, aun que ambas como ya se mencionó, son susceptibles tanto al ataque de *A. tumefaciens* como *A. rubi*, presentando ante el ataque de ambos patógenos los síntomas de agallas en las cañas, cuello y raíces.

4.3. Mapeo y Zonificación de *Agrobacterium tumefaciens*.

A partir de los resultados del nivel de Incidencia por comunidad se ensayó realizar un mapa diferenciando el grado de Incidencia obtenido por cada comunidad, sin embargo debemos ante todo tomar en cuenta que la enfermedad fue detectada en todas las parcelas en estudio. Ver Mapa N° 3.

MAPA No. 3

Distribución de *Agrobacterium tumefaciens*



Mayor Nivel de Incidencia [8, 1-12%] (Tomatas Grandes)
Greater Level of Impact [8, 1-12%] (Tomatas Grandes)



Nivel Medio de Incidencia [4, 1-8%] (Sella Méndez, Erquis Ceibal y Tarija Cancha)
Medium Level of Impact [4, 1-8%] (Sella Méndez, Erquis Ceibal and Tarija Cancha)



Menor Nivel de Incidencia [0, 1-4%] (San Luís, Rancho N., Rancho S. y Canasmoro)
Lowest Level of Impact [0, 1-4%] (San Luís, Rancho N., Rancho S. and Canasmoro)

Lo no marcado de otras zonas no indica la ausencia del patógeno, simplemente que no se realiza el estudio.
Unmarked areas do not indicate the absence of the pathogen, it simply that these areas were not studied.

A map was not drawn up for the communities of the Department of Cochabamba due to the fact

Para las comunidades del Departamento de Cochabamba, no se realiza el mapa de

that the study or analysis only involves two communities and that among these, only one plot per community, a *Rubus* crop and a nursery, was evaluated. The incidence levels of one plot do not allow for the extrapolation of the total community since the sample is too small. Nevertheless, the positive presence of *Agrobacterium tumefaciens* in both communities of Cochabamba studied must be reiterated.

The mapping of the distribution of *Agrobacterium tumefaciens* in communities studied in the Méndez and Cercado Provinces of the Department of Tarija clearly shows the widespread distribution of this pathogen. There are differing levels of incidence, ranging from high in Tomatas Grande (%I from 8.1 to 12%), to medium in Sella Méndez, Erquis Ceibal, and Tarija Cancha (%I from 4.1 to 8%), and then to low in San Luis, Rancho Norte, Rancho Sud, and Canasmoro (%I from 0.1 to 4%)

It must be clarified that the stratification proposed for grouping levels of incidence among communities is arbitrary and has been designed only for the purpose of creating a graph representation to show the general distribution of the pathogen.

If these results are compared with those from the communities of Cochabamba, it is evidenced that, using the same proposed incidence scale for community stratification, incidence levels are higher in Cochabamba than in Tarija, with levels from 12.1 to 16% in Huayllani Chico and from 20.1 to 24% in Tusca Pugio.

zonificación, debido a que el estudio o análisis solo contempla 2 comunidades y aún en estas solo se evaluó una parcela por comunidad, con cultivo de *Rubus* y un vivero. Por esta razón, los resultados del nivel de Incidencia de una parcela no consideramos posible extrapolarlo al total de la comunidad, por ser demasiado pequeña la muestra, sin embargo reiteramos la presencia positiva de *Agrobacterium tumefaciens* en ambas comunidades estudiadas de Cochabamba.

En cuanto al mapa de zonificación de la distribución de *Agrobacterium tumefaciens* en las comunidades estudiadas de las provincias Méndez y Cercado del Departamento de Tarija, se puede observar claramente y en primer lugar la distribución generalizada de este patógeno en las comunidades evaluadas, existiendo diferencias en cuanto al nivel de Incidencia detectado siendo mayor en la comunidad de Tomatas Grande (%I de 8,1 a 12%), luego las comunidades de Sella Méndez, Erquis Ceibal y Tarija Cancha (%I de 4,1 a 8%) y finalmente las comunidades de San Luis, Rancho Norte, Rancho Sud y Canasmoro (%I de 0,1 a 4%)

Sin embargo, debemos aclarar que la estratificación propuesta para agrupar los niveles de Incidencia de las comunidades es arbitrario y solo con fines de representarlo gráficamente, siendo el principal resultado la distribución general del patógeno.

Si comparamos estos resultados con los obtenidos en las comunidades del Departamento de Cochabamba, podemos indicar que el nivel de Incidencia obtenido en este Departamento son superiores a los obtenidos en Tarija, con niveles de 12,1 a 16% para la comunidad de Huayllani Chico y de 20,1 a 24% para la comunidad de Tusca Pugio, bajo la misma escala de Incidencia propuesto para la estratificación de comunidades.

4.4. pH Conditions for the Presence and Infection of *Agrobacterium spp.*

The results of Hydrogen (pH) potential tests for measuring acidity or alkalinity of the soil, carried out in soil laboratories, are presented in Table N° 8. (The laboratory Report is presented in Annex N° 5.)

Table N° 8

pH Levels of Several Plots in the Study Communities.

4.4. Condiciones de pH para la presencia e infección de *Agrobacterium spp.*

Los resultados del potencial Hidrógeno (pH) para medir la acidez o alcalinidad del suelo, realizados en el Laboratorio de Suelos, son presentados en el Cuadro N° 8 (Informe del Laboratorio en el Anexo N° 5)

Cuadro N° 8

Nivel de pH de algunas parcelas en las Comunidades en estudio

Comunidad	Finca		pH
	Propietario	No.	
TARIJA			
Tomatas Grande	Ruperto Segovia	1	7,3
Sella Méndez	Venancio Jurado y Remy Gareca	25y 26	7,8 y 7,4
Erquis Ceibal	Juan Carlos Navajas	21	7,3
Tarija Cancha	Manuel López	18	7,2
San Luís	John Muggeridge	28	7,8
Rancho Norte	AFRUTAR	12	7,4
Rancho Sud	Manuel Figueroa y Abraham Garzón	8 y 9	7,4 y 7,0
Canasmoro	Fernando Perales	5	7,5
COCHABAMBA			
Tucaspugio	Vivero 4 Estaciones	3 Cbba.	6,8
Huayllani Chico	Serafín Castellón	2 Cbba.	7,6

Fuente: Laboratorio de Suelos U.A.J.M.S., a partir de muestras propias.

Community	Farm		pH
	Owner	No.	
TARIJA			
Tomatas Grande	Ruperto Segovia	1	7.3
Sella Méndez	Venancio Jurado and Remy Gareca	25y 26	7.8 y 7.4
Erquis Ceibal	Juan Carlos Navajas	21	7.3
Tarija Cancha	Manuel López	18	7.2
San Luís	John Muggeridge	28	7.8
Rancho Norte	AFRUTAR	12	7.4
Rancho Sud	Manuel Figueroa and Abraham Garzón	8 y 9	7.4 y 7.0
Canasmoro	Fernando Perales	5	7.5
COCHABAMBA			
Tucaspugio	“Four Seasons Greenhouse”	3 Cbba.	6.8
Huayllani Chico	Serafín Castellón	2 Cbba.	7.6

Source: Soil Laboratory U.A.J.M.S., starting from own samples.

As was mentioned in the technical background, the pH levels that are cited to be suitable for the infection of *Agrobacterium tumefaciens*, are from 5.0 to 5.8, according to Mercado and Quezada (in: Caballero, 2001), and an optimum of 6.8, although the population levels can be well sustained at levels from 6.8 to 8.4, according to López and Montesinos (in: Phytoma, 2000).

Como se mencionó en los antecedentes técnicos, los niveles de pH que cita la bibliografía adecuados para la infección de *Agrobacterium tumefaciens* son de 5.0 a 5.8 según Mercado y Quezada (in: Caballero, 2001) y según López y Montesinos (in: Phytoma, 2000) un pH óptimo del suelo de 6.8, aunque los niveles poblacionales pueden mantenerse bien entre pH de 6.8 y 8.4.

Soil samples from the study communities show relatively homogenous pH levels in the range of 7.0 to 7.8 in Tarija and 6.8 to 7.6 in Cochabamba.

Even though the above results do not fall into suitable levels according to Mercado and Quezada, the plot of Tuscapugio does have an optimum pH level (6.8), according to López and Montesinos. At any rate, and in accordance with the later authors, all plots are in the pH range in which bacteria populations can survive well.

It is also necessary to consider that soil pH levels are variable, where particular aggregates are present with a pH that can create optimum conditions for the infection of the bacteria.

For these reasons, it is considered that the pH levels of the soils studied are not a limiting factor for the presence of *Agrobacterium* and do not allow for discrimination among communities.

V. PROPOSAL OF STRATEGIES FOR THE INTRODUCTION OF NEW MATERIAL INTO THE RESEARCH ZONE

As already indicated in the technical background for *Agrobacterium*, control for Crown Gall should fundamentally be preventive, seeking to avoid the entry of the pathogen into the plot of land of the crop. Once a plant has been infected with *Agrobacterium* it is no longer possible to control the disease. Even in the absence of the bacteria the disease will continue to develop, and once a plot has been infested it is very difficult to eradicate the pathogen.

It is also very important to differentiate means of control and levels of tolerance between nurseries with mother plants and cultivation plots. In the first case of nurseries with mother plants, for both Raspberry and Blackberry, the level of tolerance is and should be zero, meaning a total absence of plants with disease symptoms. On the other hand, in the case of cultivation plots, the new concept of plant therapy and pathology considers it important to maintain a disease or diseases under an Economic Damage Threshold.

Como podemos observar en nuestras muestras de suelo de las comunidades en estudio, el pH es relativamente homogéneo, en el rango de 7.0 a 7.8 en Tarija y de 6.8 a 7.6 en Cochabamba.

Si bien estos resultados no se enmarcan dentro del pH adecuado según Mercado y Quezada, sí al menos una parcela, la de Tuscapugio se encuentra en el pH óptimo (6.8) según López y Montesinos, pero de todas maneras y de acuerdo a estos autores, todas las parcelas están en el rango de pH donde los niveles poblacionales de las bacterias pueden mantenerse bien.

Además es necesario considerar que el nivel de pH de todo suelo es variable, presentándose agregados especiales con pH que pueden dar las condiciones óptimas para la infección de la bacteria.

Por estas razones, nosotros consideramos que los resultados del pH de nuestros suelos, no son un factor limitante para la presencia de *Agrobacterium* ni permiten una discriminación entre las comunidades.

V. PROPUESTA DE ESTRATEGIAS PARA LA INTRODUCCIÓN DE MATERIAL NUEVO A LAS ZONAS DE ESTUDIO

Como ya se indicó en los antecedentes técnicos de *Agrobacterium*, el control de la Agalla de Corona, debe ser fundamentalmente preventivo, en busca de evitar el ingreso del patógeno a la parcela de cultivo. Por un lado cuando la planta ha sido infectada por *Agrobacterium* ya no es posible el control de esta enfermedad, aún en ausencia de la bacteria seguirá el desarrollo de la enfermedad, y por otro lado una vez que la parcela ha sido infestada, es muy difícil la erradicación de este patógeno.

También es importante diferenciar entre las medidas de control y nivel de tolerancia entre viveros de plantas madres y parcelas de cultivo. En el primer caso, cuando se trata de viveros de plantas madres, tanto de Frambuesa como de Zarzamora, el nivel de tolerancia es y debe ser “cero”, con ausencia total de plantas con síntomas de esta enfermedad. Sin embargo, para las parcelas productivas, el nuevo concepto de la terapéutica y patología vegetal, considera importante mantener a la o las enfermedades bajo

This threshold is understood to be the level of incidence that justifies control intervention when economic loss is greater than control costs, or to be the intensity of symptoms, the population, or the incidence of a plague for which the benefits of treatment equal the cost of the fight.

For this end, the following strategies are proposed for the introduction of plant material in the study zones:

- To introduce plants or plant propagations only from specialized nurseries that are officially certified by authorized institutions.

In the case of nurseries outside of the country, certificates of authorization should be demanded, as well as verification of that the nursery is recognized and authorized by the official institution of the country of origin for the production and sale of mother plants of the required species. This institution should also indicate that the commercialized lot has been certified, verified, and authorized as propagation material.

It is also recommended that, in addition to having official certification, the reputation of the nursery be consistent and, at least in the case of large lots, that on-site inspection be carried out by technicians responsible for and knowledgeable in the *Rubus* genus. This inspection is to substantiate nursery management and in particular, the absence of plants with Crown Gall symptoms.

For the importation of this material a Phytosanitary Exportation Certificate should be demanded from the country of origin, as recognized by SENASAG, Bolivia, and a Phytosanitary Importation Certificate, as explicit proof of being free from *Agrobacterium tumefaciens*. At the time of commercial transaction with supplying nurseries, certificates must be demanded along with the requirements for verifying of the presence or absence of *Agrobacterium tumefaciens*.

de un Umbral de Daño Económico, entendido como el nivel de incidencia, que justifica la intervención con medidas de control, cuando la pérdida económica es superior al costo del control o como la intensidad de síntomas, población o incidencia de una plaga, por la cuál el beneficio del tratamiento es igual al costo de la lucha.

De esta manera, para la introducción de material vegetal a las zonas de estudio se propone las siguientes estrategias:

- Introducir plantas o propágulos vegetativos únicamente de viveros especializados y certificados oficialmente por instituciones autorizadas para este fin.

En el caso de viveros del exterior del País se debe exigir los certificados de autorización y verificación de ser viveros reconocidos y autorizados para la multiplicación y venta de plantas madres de la especie requerida, por la institución oficial del País de origen, donde además se indique que el lote comercializado ha sido certificado, verificado y autorizado como material de propagación.

También es recomendable que aparte de la certificación oficial, tener constancia del prestigio del vivero y en lo posible, al menos para la importación de grandes lotes, la verificación *in situ* de los técnicos responsables y entendidos en *Rubus*, para comprobar el manejo del vivero y en especial de la ausencia de plantas sintomáticas de Agalla de Corona.

Ya para el proceso de Importación de ese material, se debe exigir un certificado Fitosanitario de Exportación del País de origen, reconocido por el SENASAG Bolivia y un certificado Fitosanitario de Importación, exigiendo para ambos certificados Fitosanitarios, la constancia explícita de ser libres de *Agrobacterium tumefaciens*. Al momento de realizar la transacción comercial con los viveros proveedores, se debe solicitar estos certificados haciendo constar explícitamente los requerimientos de verificación de la presencia o

Even with the above procedures, it is always necessary to revise plants thoroughly, one by one, in order to confirm the absence of Crown Gall symptoms in the purchased lot before introducing or planting the plants. The presence of just one plant with symptoms could be motive for rejecting the whole lot, even if corresponding certificates accompany it, since the bacteria could be present in a latent stage in the other plants.

In the case of national nurseries, certification as nurseries specialized for the production and commercialization of mother plants for the required species must be demanded as well. The Regional Office for Seeds (*Oficina Regional de Semillas / ORS*) of each department in which the nursery is located emits such certification in Bolivia.

Nevertheless, it must be mentioned that, unfortunately, in Bolivia there are no specific standards for the certification of plant material for the propagation of Raspberry (*Rubus ideaus*) and Blackberry (*Rubus fruticosus*). Norms are proposed by the regional ORS, and they are approved and put into effect by Regional Administrative Committees for Seeds (*Comités Regionales Administrativos de Semillas*) and the Ministry of Rural, Indigenous, and Agricultural Affairs.

- For reasons already explained, as a strategy for the introduction of plant material in *Rubus* production zones, this document proposes the creation of specialized nurseries for the propagation of mother plants of the *Rubus* species in different zones of the country and under the certification of the corresponding ORS.

For this end ORS should be requested to elaborate the specific norms for propagation of plant material for Raspberry and Blackberry. Producer associations for these species could also propose such norms.

ausencia de *Agrobacterium tumefaciens*.

De todas maneras, siempre es necesaria una exhaustiva revisión de planta por planta, antes de la introducción o plantación misma en las parcelas, para comprobar la ausencia de síntomas de Agalla de Corona en todo el lote adquirido. La presencia de solo una planta con síntomas podría ser motivo de rechazo de todo el lote, aún contando con las certificaciones respectivas, puesto que esto puede conllevar la presencia latente en otras plantas.

En el caso de viveros nacionales, se debe igualmente solicitar la certificación de ser viveros especializados para la multiplicación y comercialización de plantas madres de la especie requerida. Esta certificación en nuestro País debe ser emitida por la Oficina Regional de Semillas (ORS) del Departamento donde se encuentre el vivero.

Sin embargo, debemos mencionar que lamentablemente en Bolivia, no existen aún las Normas Específicas para la Certificación de Material Vegetal de Propagación de Frambuesa (*Rubus ideaus*) y Zarzamora (*Rubus fruticosus*). Estas Normas son propuestas por las ORS regionales y aprobadas para su puesta en vigencia por los Comités Regionales Administrativos de Semillas y el Ministerio de Asuntos Campesinos, Indígenas y Agropecuarios.

- Por las razones previamente expuestas, en este documento se propone como una de las estrategia para la introducción de material vegetativo a las zonas de producción de *Rubus*, el de fomentar la Creación de Viveros Especializados en la propagación de plantas madres del género *Rubus*, en diferentes zonas del País y bajo la Certificación de la ORS correspondiente.

Para este fin, se deberá solicitar a las ORS, la elaboración, de las Normas específicas para el material propagativo de Frambuesa y Zarzamora, normas que además pueden ser propuestas por las mismas asociaciones de productores de estas especies.

Having available producers-nurseries that are specialized in plant material for the propagation of Raspberry and Blackberry is the best guarantee for not further propagating *Agrobacterium tumefaciens* or other pathogens proper to *Rubus*.

Cultivation from this proposed elite propagation material, as is the case of material from the cultivation *in vitro*, guarantees that plants are also free from viruses and are rejuvenated, having greater productive potential.

The creation of these nurseries will also make plant material available for varieties that are better adapted to our conditions and that, once adapted, will dynamically respond to the demand and preferences of the market. This strategy will create long-term sustainability.

- The implementation of quarantine centers is a measure that is not very practical and that is difficult to implement. This strategy should be carried out in nurseries that are specialized in vegetative quarantine. To guarantee the absence of *Agrobacterium tumefaciens* the plants should be cultivated for no less than three months.
- Given that this investigation has proven the widespread presence of *Agrobacterium tumefaciens*, it is recommended that all new cultivations and that the management of cultivations of the *Rubus* genus follow the general control measures indicated in scholarly materials. Among those recommendations, the following are emphasized:

- Use of healthy plants from certified nurseries, as already indicated.
- Elimination of all plants presenting Crown Gall symptoms.
- Disinfection of pruning tools (70% Alcohol or 10% p.c. Sodium Hypochlorite)

El contar con productores – viveristas, especializados en materia vegetal para la propagación de Frambuesa y Zarzamora, será la mejor garantía de no propagar más *Agrobacterium tumefaciens* ni otras patologías propias del género *Rubus*.

El cultivo a partir de material de propagación elite, como es el caso de material proveniente de Cultivo *in vitro*, además nos garantiza contar con plantas libres de virus y rejuvenecidas, lo cuál le confiere un mayor potencial productivo.

La creación de estos viveros además nos permitirá contar con material vegetal de las variedades mejor adaptadas a nuestras condiciones, ya adaptado, y que responda a las exigencias y preferencias del mercado de carácter dinámico, estrategia que nos permitirá sostenibilidad en el largo plazo.

- La implementación de centros cuarentenarios es una medida poco práctica y de difícil ejecución, la cuál deberá realizarse en viveros especializados de cuarentenas vegetales, con garantía de la ausencia de *Agrobacterium tumefaciens* donde las plantas deberán ser cultivadas por periodos no menores a los tres meses.
- Como se ha comprobado en la presente investigación, la presencia generalizada de *Agrobacterium tumefaciens* se recomienda para toda nueva plantación y el manejo de las parcelas del género *Rubus*, seguir los medios de control generales indicados por bibliografía, entre los cuales se destacan:
 - Utilizar plantas sanas, provenientes de viveros certificados, ya indicado,
 - Eliminar toda planta que presente los síntomas de Agalla de Corona.
 - En las podas desinfectar las herramientas (Alcohol 70% o Hipoclorito de Sodio al 10% p.c.)

- Minimization of plant lesions.
- Cultivation on parcels where susceptible species have not been cultivated for at least three years, where the presence of *Agrobacterium tumefaciens* has not been verified, or, if there are any records where the bacteria existed for more than five years.
- Implementation of biological control with *Agrobacterium radiobacter* by immersing roots of new plants in solutions of this antagonistic bacteria.

VI. CONCLUSIONS

To finalize this research based on the basis of its results, the following conclusions are presented:

- The presence of *Agrobacterium tumefaciens*, causing Crown Gall disease, was detected in all communities studied, two from the Chapare Province of the Department of Cochabamba, Tusca Pugio and Huayllani Chico, and eight from the Méndez and Cercado Provinces of the Department of Tarija, Tomatas Grande, Canasmoro, Tarija Cancha, Sella Méndez, Rancho Norte, Rancho Sur, Erquis Ceibal, and San Luis.
- The presence of *Agrobacterium rhizogenes*, causing Root Proliferation, was also detected in all communities except for that of Tusca Pugio in Cochabamba.
- Histological microscopic analysis confirmed symptoms of hyperplasia and cellular hypertrophy in the tumorous tissues induced by *A. tumefaciens*
- Crown Gall disease, caused by *Agrobacterium tumefaciens*, was detected in seven different cultivations: Raspberry, Blackberry, Peach, Apple, Grapevine, Plum, and Apricot; with only Strawberry presenting negative.

- Minimizar las heridas en las plantas.
- Implantar en parcelas donde no se haya cultivado especies susceptibles, al menos los últimos tres años, donde no se haya verificado la presencia de *Agrobacterium tumefaciens*, o más de cinco años si existen antecedentes de *Agrobacterium tumefaciens* en la parcela.
- Efectuar un control biológico, con *Agrobacterium radiobacter*, mediante la inmersión de las raíces, en soluciones conteniendo esta bacteria antagonista, de las nuevas plantas a implantar.

VI. CONCLUSIONES

A la conclusión del presente trabajo de investigación y en función a los resultados obtenidos, nos permitimos presentar las siguientes conclusiones:

- Se detectó la presencia de *Agrobacterium tumefaciens* causando la enfermedad de la Agalla de Corona en todas las comunidades estudiadas, dos del Departamento de Cochabamba, provincia Chapare: Tusca Pugio y Huayllani Chico; ocho del Departamento de Tarija, provincias Méndez y Cercado: Tomatas Grande, Canasmoro, Tarija Cancha, Sella Méndez, Rancho Norte, Rancho Sur, Erquis Ceibal y San Luis.
- De la misma manera se detectó la presencia de *Agrobacterium rhizogenes* causando la Proliferación de Raíces, en todas las comunidades estudiadas a excepción de la comunidad de Tusca Pugio en Cochabamba.
- El análisis histológico – microscópico, confirmó la sintomatología de hiperplasia e hipertrofia de las células en los tejidos tumorales inducidos por *A. tumefaciens*
- La enfermedad de la Agalla de Corona, causada por *Agrobacterium tumefaciens* fue detectada en siete cultivos diferentes: Frambuesa, Zarzamora, Durazno, Manzano, Vid, Ciruelo y Damasco; siendo negativa su detección únicamente

en Frutilla.

- *Agrobacterium rhizogenes*, the causal agent of Root Proliferation, was principally detected in Apple cultivations, and in lesser degree in Peach and Plum cultivations, among the species analyzed.
- This research did not differentiate between *Agrobacterium tumefaciens* and *Agrobacterium rubi* due to the fact that both species cause the same symptoms in the *Rubus* species, Raspberry and Blackberry, and that both pathogens cause Crown Gall (or Cane Gall) in both *Rubus* species.
- Through a search of past studies on the detection of *Agrobacterium tumefaciens* in Tarija and Cochabamba, they proved that this species had been found in the communities of the Central Valley of Tarija and of the High Valley of Cochabamba.
- As for the incidence levels of this pathogen, results show a higher percentage in the communities of Cochabamba, with 23.56% in Tusca Pugio and 13.18% in Huayllani Chico. Among the communities of Tarija, levels are presented in decreasing order as follows: Tomatas Grande (10.49%), Sella Méndez (6.89%), Erquis Ceibal (6.52%), Tarija Cancha (5.23%), San Luis (3.31%), Rancho Norte (2.94%), Rancho Sur (2.51%), and Canasmoro (1.93%).
- The levels of incidence per crop, in decreasing order, are the following: Apricot (50.00%), Plum (19.88%), Apple (13.40%), Peach (4.00%), Blackberry (2.85%), Grape (2.52%), and Raspberry (0.41%).
- Entre las especies analizadas, *Agrobacterium rhizogenes*, agente causal de la Proliferación de Raíces, fue detectada principalmente en el Manzano, y en menor grado en Duraznero y Ciruelo.
- En el presente trabajo de investigación, no se diferenció entre *Agrobacterium tumefaciens* y *Agrobacterium rubi*, debido a que ambas especies causan el mismo síntoma en las especies de *Rubus*, Frambuesa y Zarzamora, y ambas especies patógenas pueden causar la enfermedad de la agalla de corona (o agalla de la caña) en ambas especies de *Rubus*.
- En la búsqueda de antecedentes de la detección de *Agrobacterium tumefaciens* en investigaciones anteriores de Tarija y Cochabamba, también se comprobó que esta especie ya fue detectada en diferentes comunidades del Valle Central de Tarija y en el Valle Alto de Cochabamba.
- En cuanto al nivel de Incidencia de este patógeno, los resultados muestran un porcentaje mayor en las comunidades de Cochabamba, con 23.56% en Tusca Pugio y 13.18% en Huayllani Chico. Entre tanto para las comunidades de Tarija, en orden decreciente de importancia relativa de su Incidencia, presentaron: Tomatas Grande (10.49%), Sella Méndez (6.89%), Erquis Ceibal (6.52%), Tarija Cancha (5.23%), San Luis (3.31%), Rancho Norte (2.94%), Rancho Sur (2.51%) y Canasmoro (1.93%).
- Para el nivel de Incidencia por cultivo, los resultados en orden decreciente de importancia indicaron: Damasco (50.00%), Ciruelo (19.88%), Manzano (13.40%), Durazno (4.00%), Zarzamora (2.85%), Vid (2.52%) y Frambuesa (0.41%).

- On the basis of results obtained, a mapping of *Agrobacterium tumefaciens* shows its widespread distribution among the communities under research. There are varying detected levels of incidence, with Cochabamba having levels from 12.1 to 16% in the community of Huayllani Chico and from 20.1 to 24% in Tusca Pugio, and with Tarija having high levels in the community of Tomatas Grande (%I from 8.1 to 12%), medium levels in Sella Méndez, Erquis Ceibal, and Tarija Cancha (%I from 4.1 to 8%), and, finally, low levels in San Luis, Rancho Norte, Rancho Sud, and Canasmoro (%I from 0.1 to 4%)
- De acuerdo a los resultados obtenidos, el mapeo y zonificación de *Agrobacterium tumefaciens* mostró su distribución generalizada en todas las comunidades en estudio, existiendo diferencias en cuanto al nivel de Incidencia detectado, en Cochabamba con niveles de 12,1 a 16% para la comunidad de Huayllani Chico y de 20,1 a 24% para la comunidad de Tusca Pugio y en Tarija siendo mayor en la comunidad de Tomatas Grande (%I de 8,1 a 12%), luego las comunidades de Sella Méndez, Erquis Ceibal y Tarija Cancha (%I de 4,1 a 8%) y finalmente las comunidades de San Luis, Rancho Norte, Rancho Sud y Canasmoro (%I de 0,1 a 4%)
- Soil pH conditions were relatively homogenous, in the range of 7.0 to 7.8 in Tarija and 6.8 to 7.6 in Cochabamba, not constituting a limiting factor for infection and the presence of *Agrobacterium* or allowing for differentiations among communities.
- Las condiciones del pH de suelos, mostraron ser relativamente homogéneas, en el rango de 7.0 a 7.8 en Tarija y de 6.8 a 7.6 en Cochabamba, no siendo un factor limitante para la infección y presencia de *Agrobacterium*, ni permiten una discriminación entre las comunidades.
- On the basis of this investigation, the following measures are proposed as strategies for the introduction of plant material in the production zone:
 - Nursery certification giving authority for the production of propagation material and providing certification that the lot is free of *Agrobacterium tumefaciens*.
 - Phytosanitary certification from the country of origin and from SENASAG, Bolivia.
 - The creation of national nurseries that specialize in the propagation of *Rubus* under a formal certification system with specific standards set by ORS.
 - Since the widespread presence of *Agrobacterium tumefaciens* was detected in the study zones, it is recommended that control measures be followed, such as the introduction of healthy soil, crop rotation, and biological control with *Agrobacterium radiobacter*, among others.
- En este trabajo se propone como estrategias para la introducción de material vegetal a la zona de producción las siguientes medidas:
 - Certificación del vivero de estar autorizado para la multiplicación de material de propagación y certificación de que el lote esta libre de *Agrobacterium tumefaciens*.
 - Certificación Fitosanitaria del País de origen y del SENASAG Bolivia.
 - Fomentar la creación de viveros nacionales, especializados en la propagación de *Rubus*, bajo el sistema formal de certificación de la ORS, con normas específicas.
 - Habiendo sido comprobada la presencia generalizada de *Agrobacterium tumefaciens*, en todas las zonas de estudio, se recomienda seguir todas las medidas de control, como la introducción de material sano, la rotación de cultivos y el control biológico con

Agrobacterium radiobacter, entre otras.

BIBLIOGRAPHY

AGRIOS, G., 1991. Fitopatología. Limusa, México.

CABALLERO, J.L., VALPUESTA, V. Y MUÑOZ B., J. 2001. Introducción a la Biotecnología Vegetal: Métodos y Aplicaciones. Ed. CajaSUR. Córdoba, España.

CÁRDENAS P.GUSTAVO H. 1999. Manual de Viticultura. Ed. Centro de Información para el Desarrollo (CID). La Paz, Bolivia.

FERNANDEZ VALIELA. 1952. Introducción a la Fitopatología. Ed. Gadola. Buenos Aires, Argentina.

FERRARO OLMOSS< RICARDO. 1983. Viticultura Moderna. Tomo II. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay.

JAUCH CLOTILDE. 1985. Patología Vegetal. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.

LACROIX MICHEL. 2004. La Tumeur du Collet, une Maladie de sol qu'il fau savoir Préviner. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation. Quebec. [En línea] Disponible en : <http://www.agrireseau.qc.ca> [Consulta: febrero de 2004]

MARCHIONATO JUAN B. 1948. Tratado de Fitopatología. Editorial Sudamérica. Buenos Aires, Argentina.

MARTÍNEZ S. 2003. Apuntes de Genética. Mimeo. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija.

MARTÍNEZ S. *et al.* 2003. Diagnóstico, Zonificación y Epidemiología de las Enfermedades de la Vid (*Vitis vinifera*) en el Valle Central de Tarija. Documento de Investigación Universitario. Universidad Autónoma Juan Misael Aracho – Proyecto AUTAPO. Tarija.

PHYTOMA. 2000. Patología Vegetal. 2 tomos. Ed. Mundi Prensa. España.

BIBLIOGRAFÍA

AGRIOS, G., 1991. Fitopatología. Limusa, México.

CABALLERO, J.L., VALPUESTA, V. Y MUÑOZ B., J. 2001. Introducción a la Biotecnología Vegetal: Métodos y Aplicaciones. Ed. CajaSUR. Córdoba, España.

CÁRDENAS P.GUSTAVO H. 1999. Manual de Viticultura. Ed. Centro de Información para el Desarrollo (CID). La Paz, Bolivia.

FERNANDEZ VALIELA. 1952. Introducción a la Fitopatología. Ed. Gadola. Buenos Aires, Argentina.

FERRARO OLMOSS< RICARDO. 1983. Viticultura Moderna. Tomo II. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay.

JAUCH CLOTILDE. 1985. Patología Vegetal. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.

LACROIX MICHEL. 2004. La Tumeur du Collet, une Maladie de sol qu'il fau savoir Préviner. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation. Quebec. [En línea] Disponible en: <http://www.agrireseau.qc.ca> [Consulta: febrero de 2004]

MARCHIONATO JUAN B. 1948. Tratado de Fitopatología. Editorial Sudamérica. Buenos Aires, Argentina.

MARTÍNEZ S. 2003. Apuntes de Genética. Mimeo. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija.

MARTÍNEZ S. *et al.* 2003. Diagnóstico, Zonificación y Epidemiología de las Enfermedades de la Vid (*Vitis vinifera*) en el Valle Central de Tarija. Documento de Investigación Universitario. Universidad Autónoma Juan Misael Aracho – Proyecto AUTAPO. Tarija.

PHYTOMA. 2000. Patología Vegetal. 2 tomos. Ed. Mundi Prensa. España.

SEMAL, J. et al. 1993. Traite de Pathologie vegetale. Les Presses Agronomiques de Gembloux. Gembloux, Bélgica.

SOTO PÉREA, J.P. 1998. Incidencia y Severidad de Agalla de Corona en el Duraznero (*Agrobacterium tumefaciens*) en el Valle Alto de Cochabamba. Tesis de Grado. U.M.S.S. Cochaabamba.

THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY (APS). Compendium of Apple and Pear Diseases, Compendium of stone Fruit Diseases, Compendium of Grape Diseases, Compendium of Rose Diseases. APS Press. EE.UU.

THE AMERICAN PHYTOPHATOLOGICAL SOCIETY. 1989. Detection of Bacteria in Seed. APS Press. USA.

SEMAL, J. et al. 1993. Traite de Pathologie vegetale. Les Presses Agronomiques de Gembloux. Gembloux, Bélgica.

SOTO PÉREA, J.P. 1998. Incidencia y Severidad de Agalla de Corona en el Duraznero (*Agrobacterium tumefaciens*) en el Valle Alto de Cochabamba. Tesis de Grado. U.M.S.S. Cochaabamba.

THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY (APS). Compendium of Apple and Pear Diseases, Compendium of stone Fruit Diseases, Compendium of Grape Diseases, Compendium of Rose Diseases. APS Press. EE.UU.

THE AMERICAN PHYTOPHATOLOGICAL SOCIETY. 1989. Detection of Bacteria in Seed. APS Press. USA.

Annex 1

Associate Producers from AFRUTAS con *Rubus* spp. Plots of land.

Anexo 1

Productores Socios de AFRUTAR con parcelas de *Rubus* spp.

Comunidad	Productor
Rancho Norte	Freddy Arraya
	AFRUTAR
	Oscar Rueda
	Jorge Huaita
Rancho Sud	Manuel Figueroa
	Abraham Garzón
	Boris Huamcata
	Arturo Quispe
	Estanislao Velázquez
	Jorge Cari
Tomatas Grande	Rosandel Méndez
	Silvia Méndez
	Crecencio Méndez
	Atilio Méndez
	Rafael Aparicio
Canasmoro	Reodoro Méndez
	Fernando Perales
	Savino Borja
San Luís	Ernesto Tarifa
	John Muggeridge
Tarija Cancha	Rufino Nina
	Roberto Valdés
	Rufino Valdés
	Juan Carlos
	Fernández
Erquis Ceibal	Juan Carlos Navajas
	Miguel Avila
	Hugo Navajas
	Anselmo Zenteno
Sella Méndez	Beatriz Velázquez
	Benancía Jurado
	Naval Gareca

*Información cedida por AFRUTAR

Community	Producer
Rancho Norte	Freddy Arraya
	AFRUTAR
	Oscar Rueda
	Jorge Huaita
Rancho Sud	Manuel Figueroa
	Abraham Garzón
	Boris Huamcata
	Arturo Quispe
	Estanislao Velázquez
	Jorge Cari
Tomatas Grande	Rosandel Méndez
	Silvia Méndez
	Crecencio Méndez
	Atilio Méndez
	Rafael Aparicio
Canasmoro	Reodoro Méndez
	Fernando Perales
	Savino Borja
San Luís	Ernesto Tarifa
	John Muggeridge
Tarija Cancha	Rufino Nina
	Roberto Valdés
	Rufino Valdés

	Juan Carlos Fernández
Erquis Ceibal	Juan Carlos Navajas Miguel Avila Hugo Navajas Anselmo Zenteno
Sella Méndez	Beatriz Velázquez Benancia Jurado Naval Gareca

*Information provided by AFRUTAR

Annex 2

Form to Register Plots of Land

Anexo 2

Formulario de registro de Parcelas

FORMULARIO

Comunidad: **Fecha:**.....
Parcela de: **No. de parcela:**

Especies cultivadas: 1)..... **Linderos:** 1).....
2)..... 2).....
3)..... 3).....
4).....
5).....

Preguntas al productor:

Conoce la Agalla de Corona?

Tiene usted alguna planta en su parcela con Agalla de Corona?

Si, Sí: Puede mostrárnosla? [sacar muestras]

Plantas detectadas con síntomas de Agalla de Corona
Evaluación de la Incidencia Dirigida (ID)

Especie/Cultivo	No. plantas con síntomas (mostradas por el productor o detectadas)	No. total de Plantas (por conteo o estimación de la parcela)

Evaluación de la Incidencia al Azar

Especie/Cultivo	Repetición	No. plantas con síntomas	No. total de Plantas
	1		
	2		
	3		

No. de Muestras para el Laboratorio de Fito:.....de Suelos:

Identificación de muestras:.....

OBSERVACIONES:

REVERSO
Croquis Parcela

REGISTERING FORM

Community: **Date:**

Owner of Plot of land:..... **No. of plots of land:**

Species cultivated: 1)..... **Boundaries:** 1).....
2)..... 2).....
3)..... 3).....
4).....
5).....

Questions to the producer:

Do you know “Crown Gall”?

Do you have a plant in your plot of land with “Crown Gall”?

Yes, Yes: Can you show it to us? [get samples]

Plants detected with “Crown Gall” symptoms

Evaluation of the Guided Incidence (GI)

Specie/Crop	No. plants with symptoms (shown by the producer or detected)	Total No. of Plants (by counting or estimate of the plot of land)

Evaluation of Random Impacts

Specie/Crop	Repetition	No. plants with symptoms	Total No. of Plants
	1		
	2		
	3		

No. of Samples by the Phyto Laboratory:.....of Soil:

Identification of samples:.....

OBSERVATIONS:

REVERSE Map of the Plot of land

Annex 3

Detail of the number of farms and crops evaluated by Community

Anexo 3

Detalle del número de Fincas y Cultivos evaluados por Comunidad

Comunidad	No. de Fincas	No. de Cultivos	Cultivos*
TARIJA			
Tomatas Grande	4	4	Frambuesa Zarzamora Durazno (2) Manzano
Canasmoro	3	4	Frambuesa (2) Zarzamora Durazno Manzano (2)
Tarija Cancha	4	4	Frambuesa Durazno (2) Manzano (2) Frutilla
Sella Méndez	4	6	Frambuesa Zarzamora Durazno (3) Manzano (2) Vid Ciruelo
Rancho Norte	4	4	Frambuesa (6) Zarzamora (2) Durazno (4) Manzano
Rancho Sud	5	4	Frambuesa (2) Durazno Manzano (3) Ciruelo
Erquis Ceibal	5	4	Frambuesa Zarzamora Durazno (4) Manzano Vid
San Luís	4	5	Frambuesa Zarzamora Durazno (4) Manzano Vid
COCHABAMBA			
Tuscapugio	1	5	Frambuesa Zarzamora Manzano Vid Damasco
Huayllani Chico	2	5	Frambuesa Zarzamora (2) Manzano Ciruelo (2) Damasco
TOTALES			
10 Comunidades	36 Fincas	8 Cultivos	75 Evaluaciones

*Detalle de los cultivos y veces que se realize el ensayo de cada uno.

Community	No. of Farms	No. of Crops	Crops*
TARIJA			
Tomatas Grande	4	4	Raspberry Blackberry Peach (2) Apple
Canasmoro	3	4	Raspberry (2) Blackberry Peach Apple (2)
Tarija Cancha	4	4	Raspberry Peach (2) Apple (2) Strawberry
Sella Méndez	4	6	Raspberry Blackberry Peach (3) Apple (2) Grape Plumb
Rancho Norte	4	4	Raspberry (6) Blackberry (2) Peach (4) Apple
Rancho Sud	5	4	Raspberry (2) Peach Apple (3) Plumb
Erquis Ceibal	5	4	Raspberry Blackberry Peach (4) Apple Grape
San Luís	4	5	Raspberry Blackberry Peach (4) Apple Grape
COCHABAMBA			
Tuscapugio	1	5	Raspberry Blackberry Apple Grape Apricot
Huayllani Chico	2	5	Raspberry Blackberry (2) Apple Plumb (2) Apricot
TOTAL			
10 Communities	36 Farms	8 Crops	75 Evaluations

Annex 4

General Information and Incidence Calculations

Anexo 4

Datos Generales y Cálculos de la Incidencia

Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% de Impact	Mthd.	Observations
Fecha	Land									
TARIJA										
07/02/04	1	Ruperto Segovia	Apple Tree	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	114	51 51	19 7	37,25% 13,73%	ID ID	Possible origin of plants, Coimata greenhouse
07/02/04	2	Raquel Sánchez	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	In the adjoining plot of land, belonging to E.Molina, a high level of <i>A.rhizogenes</i> were detected in the Apple tree (6/25 = 24%)
07/02/04	3	Silvia Méndez	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Boundaries
		Crecencia Méndez	Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	150 100 250	0 1 1	0,00% 1,00% 0,40%	IA IA IA	According to the producer, the year 2003, several plants (50) dried will gall
07/02/04	4	Atilio Méndez	Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	110	100	2	1,82%	ID	
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plants Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mthd.	Observations
Date	Land									
Canasmoro										
09/02/04	5	Fernando Perales	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	485	80 80	3 20	3,75% 25,00%	ID ID	
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	140	20 20 40	0 0 0	0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA	
09/02/04	6	Savino Borja	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	160	60 60	7 31	11,67% 51,67%	ID ID	Possible origin of plants, Coimata greenhouse
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	164	164	0	0,00%	ID	Newly planted, 2 days
09/02/04	7	Ernesto Tarifa	Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	0	0,00%	ID	Boundaries
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mthd.	Observations
Date	Land									
Rancho Sud										
10/02/04	8	Manuel Figueroa	Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	500	50 50 100	0 1 1	0,00% 2,00% 1,00%	IA IA IA	Plot of land located in Tomatitas
10/02/04	9	Abraham Garzón	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	204	40	1	2,50%	ID	Plot of land
			Peach	<i>A.tumefaciens</i>	50	50	2	4,00%	ID	Boundaries
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	30	30	0	0,00%	ID	
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	360	20 20 20 60	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	
10/02/04	10	Arturo Quispe	Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	90	33	2	3,33%	ID	
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	33 33 33 99	0 1 0 1	0,00% 3,03% 0,00% 1,01%	IA IA IA IA	
11/02/04	11	Estanislao Velasquez	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Greenhouse
			Peach	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	16	20,00%	ID	Boundaries
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	40 40 40 120	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	
27/02/04	30	Teófilo Camacho	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	50	44	0	0,00%	ID	

Evaluación de la Incidencia y Mapeo de Agalla de Corona (*Agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Género *Rubus* en Tarija y Cochabamba

				<i>A.rhizogenes</i>		44	3	6,82%	ID		
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land										
Rancho Norte											
11/02/04	12	AFRUTAR		Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	60	15	0	0,00%	ID	Var: Triple Crown
				Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	60	15	0	0,00%	ID	Var: Rosberrough
				Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	Var: Carolina
				Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	Var: Kiwi gold
				Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	750	50	0	0,00%	IA	Var: Autumn bliss The person in charge showed the dry gall extracted from a raspberry plant
					<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA	
11/02/04	13	Oscar Rueda		Peach	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	0	0,00%	ID	Boundaries
				Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	110	30	0	0,00%	IA	Var: Autumn bliss The person in charge showed the dry gall extracted from a raspberry plant
					<i>A.tumefaciens</i>		30	0	0,00%	IA	
					<i>A.tumefaciens</i>		60	0	0,00%	IA	
11/02/04	14	Jorge Huayta	Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	IA	Plot of land located in Bordo El Mollar	
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>		150	0	0,00%	IA		
11/02/04	15	Freddy Arrayas		Peach	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Boundaries
				Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	22	22	2	9,09%	ID	Boundaries
					<i>A.rhizogenes</i>		22	3	13,64%	ID	
				Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	IA	
					<i>A.tumefaciens</i>		50	1	2,00%	IA	
					<i>A.tumefaciens</i>		100	1	1,00%	IA	
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land										
Tarija Cancha											
12/02/04	17	Juan Carlos Fernández	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	200	40	6	15,00%	ID		
			Strawberry	<i>A.tumefaciens</i>	4000	150	0	0,00%	ID		
12/02/04	18	Manuel López	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	221	68	6	8,82%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		68	9	13,24%	ID		
13/02/04	19	Rufino Nina	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	180	50	5	10,00%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		50	0	0,00%	ID		
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	300	50	1	2,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>		50	2	4,00%	IA		
13/02/04	20	Barulia Alemán	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	50	50	1	2,00%	ID		
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land										
Erquis Ceibal											
13/02/04	21	Juan Carlos Navajas	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	280	56	13	23,21%	ID	Possible origin of the plants, Coimata greenhouse	
				<i>A.rhizogenes</i>		56	28	50,00%	ID		
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	8000	70	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>		70	0	0,00%	IA		
13/02/04	22	Miguel Avila	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	216	72	9	12,50%	ID	Possible origin of the plants, Coimata greenhouse	
				<i>A.rhizogenes</i>		72	29	40,28%	ID		
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	3000	32	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>		32	0	0,00%	IA		
13/02/04	23	Anselma Zenteno	Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	78	20	7	35,50%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		20	3	15,00%	ID		
27/02/04	31	Bernardo Soruco	Plumb	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	2	2,50%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		80	1	1,25%	ID		
27/02/04	32	Ema Navajas	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	50	35	0	0,00%	ID	Boundaries	
Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land										
Sella Méndez											
14/02/04	24	Beatriz Velásquez	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		20	2	10,00%	ID		
			Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	0	0,00%	ID		
				<i>A.rhizogenes</i>		20	5	25,00%	ID		

Evaluation of the Impact and Mapping of “Crown Gall” (*Agrobacterium tumefaciens*) in the *Rubus* Species Producing Communities in Tarija and Cochabamba

			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	25	25	0	0,00%	ID	
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	100	13	0	0,00%	IA	
14/02/04	25	Venancio Jurado	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	130	104	2	1,92%	ID	
			Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	52	26	1	3,85%	ID	
14/02/04	26	Remy Gareca	Grape	<i>A.tumefaciens</i>	75	75	4	5,33%	ID	
			Plumb	<i>A.tumefaciens</i>	7	7	2	28,57%	ID	
14/02/04	27	Placida Gareca	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	200	33	3	9,09%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	40	4	4	10,00%	IA	
Community	Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affected.	% of Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land									
San Luís										
17/02/04	28	John Muggeridge	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	200	56	1	1,79%	ID	The producer indicates that the tumors are removed and “bordalez” pasta is applied
			Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	191	25	0	0,00%	ID	Each evaluation is according to the different varieties
				<i>A.tumefaciens</i>	6	0	0	0,00%	ID	
17/02/04	29	Mario Hinojosa	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	30	30	4	13,33%	ID	
			Grape	<i>A.tumefaciens</i>	1206	30	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	30	2	2	6,67%	IA	
28/02/04	33	Eriberto Gonzales	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	55	55	3	5,45%	ID	
			Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	
28/02/04	34	Alberto Ichazu	Peach	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	ID	According to the person in charge, 1000 plants were planted, of which at least 100 died from galls
			Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	3	15,00%	ID	
Community	Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affected.	% Impact	Mthd.	Observations	
Date	Land									
COCHABAMBA										
Huayllani Chico										
16/02/04	1 Cbba.	“Four Seasons” Greenhouse Rafael Moreno Elena Soria	Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	12	12	1	8,33%	ID	Seedlings in bags, not contemplated for the Prom.
			Apple tree	<i>A.tumefaciens</i>	10	10	0	0,00%	ID	
				<i>A.rhizogenes</i>	10	1	1	10,00%	ID	
			Plumb	<i>A.tumefaciens</i>	4	4	3	75,00%	ID	Seedlings in bags, not contemplated for the Prom.
			Plumb	<i>A.tumefaciens</i>	28	12	3	25,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	14	4	4	28,57%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	2	1	1	50,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>	28	8	8	28,57%	IA	
			Apricot	<i>A.tumefaciens</i>	6	6	2	33,33%	ID	
16/02/04	2 Cbba.	Serafín Castellón	Blackberry	<i>A.tumefaciens</i>	300	25	2	8,00%	IA	The producer indicates that the galls were found in the Raspberry, so they are removed and this burns the plant
				<i>A.tumefaciens</i>	25	0	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>	50	2	2	4,00%	IA	
			Raspberry	<i>A.tumefaciens</i>	1500	30	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	30	0	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	30	0	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>	90	0	0	0,00%	IA	

Evaluación de la Incidencia y Mapeo de Agalla de Corona (*agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Género *Rubus* en Tarija y Cochabamba

Community		Owner	Crop	Pathogen	Total Plants	Plant Eval.	Plants Affctd.	% of Impact	Mtdo.	Observaciones
Date	Land									
Tuscapugio										
16/02/04	3 Cbba.	Vivero Cuatro Estaciones Rafael Moreno	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	60	6 6 6 18	0 2 0 2	0,00% 33,33% 0,00% 11,11%	IA IA IA IA	
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	150	8 8 6 22	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	El total plantas de 150 corresponde al número de plantas madre, según el productor
			Vid	<i>A.tumefaciens</i>	60	6	0	0,00%	ID	
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	8	5	2	40,00%	ID	Linderos internos
			Damasco	<i>A.tumefaciens</i>	10	6	4	66,67%	ID	Linderos internos

Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afectd.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
TARIJA										
Tomatas Grande										
07/02/04	1	Ruperto Segovia	Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	114	51 51	19 7	37,25% 13,73%	ID ID	Possible origen de las plantas del vivero de Coimata
07/02/04	2	Raquel Sánchez	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	En la parcela continua de E.Molina se detectó alto nivel de <i>A.rhizogenes</i> , en Manzano (6/25 = 24%)
07/02/04	3	Silvia Méndez	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Linderos
		Crecencia Méndez	Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	150 100 250	0 1 1	0,00% 1,00% 0,40%	IA IA IA	Según la productora el año 2003 se sacaron varias plantas (5) con Agalla
07/02/04	4	Atilio Méndez	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	110	100	2	1,82%	ID	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Canasmoro										
09/02/04	5	Fernando Perales	Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	485	80 80	3 20	3,75% 25,00%	ID ID	
			Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	140	20 20 40	0 0 0	0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA	
09/02/04	6	Savino Borja	Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	160	60 60	7 31	11,67% 51,67%	ID ID	Possible origin de plantas vivero de Coimata
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	164	164	0	0,00%	ID	Recién plantadas, 2 días
			Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	0	0,00%	ID	Linderos
09/02/04	7	Ernesto Tarifa	Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	206	90	0	0,00%	ID	Recién plantadas, 1 sem.
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Rancho Sud										
10/02/04	8	Manuel Figueroa	Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	500	50 50 100	0 1 1	0,00% 2,00% 1,00%	IA IA IA	Parcela ubicada en Tomatitas
10/02/04	9	Abraham Garzón	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	204	40	1	2,50%	ID	Parcela
			Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	50	50	2	4,00%	ID	Linderos
			Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	30	30	0	0,00%	ID	
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	360	20 20 20 60	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	
10/02/04	10	Arturo Quispe	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	90	33	2	3,33%	ID	
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	33 33 33 99	0 1 0 1	0,00% 3,03% 0,00% 1,01%	IA IA IA IA	
11/02/04	11	Estanislao Velasquez	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Vivero
			Druazno	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	16	20,00%	ID	Linderos
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	700	40 40 40 120	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	
27/02/04	30	Teófilo Camacho	Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	50	44 44	0 3	0,00% 6,82%	ID ID	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Rancho Norte										
11/02/04	12	AFRUTAR	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	60	15	0	0,00%	ID	Var: Triple Crown
			Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	60	15	0	0,00%	ID	Var: Rosberrough

Evaluación de la Incidencia y Mapeo de Agalla de Corona (*Agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Género *Rubus* en Tarija y Cochabamba

			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	Var: Carolina
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	250	50	0	0,00%	ID	Var: Kiwi gold
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	750	50	0	0,00%	IA	Var: Autumn bliss
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA	El encargado mostró una agalla seca extraída de una planta de frambuesa
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		150	0	0,00%	IA	
11/02/04	13	Oscar Rueda	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	0	0,00%	ID	Linderos
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	110	30	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		30	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		60	0	0,00%	IA	
11/02/04	14	Jorge Huayta	Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	IA	Parcela ubicada en Bordo El Mollar
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		50	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		150	0	0,00%	IA	
11/02/04	15	Fredy Arrayas	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	Linderos
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	22	22	2	9,09%	ID	Linderos
				<i>A.rhizogenes</i>		22	3	13,64 %	ID	
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		50	1	2,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		100	1	1,00%	IA	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Tarija Cancha										
12/02/04	17	Juan Carlos Fernández	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	200	40	6	15,00 %	ID	
			Frutilla	<i>A.tumefaciens</i>	4000	150	0	0,00%	ID	
12/02/04	18	Manuel López	Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	221	68	6	8,82%	ID	
				<i>A.rhizogenes</i>		68	9	13,24 %	ID	
13/02/04	19	Rufino Nina	Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	180	50	5	10,00 %	ID	
			Frambuesa	<i>A.rhizogenes</i>		50	0	0,00%	ID	
				<i>A.tumefaciens</i>	300	50	1	2,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		50	2	4,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		100	3	3,00%	IA	
13/02/04	20	Barulia Alemán	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	50	50	1	2,00%	ID	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Erquis Ceibal										
13/02/04	21	Juan Carlos Navajas	Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	280	56	13	23,21 %	ID	Possible origin de plantas vivero de Coimata
			Frambuesa	<i>A.rhizogenes</i>		56	28	50,00 %	ID	
		Miguel Avila	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	8000	70	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		70	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		70	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		210	0	0,00%	IA	
			Manzano	<i>A.rhizogenes</i>	216	72	9	12,50 %	ID	Possible origin de plantas vivero de Coimata
				<i>A.tumefaciens</i>		72	29	40,28 %	ID	
			Frambuesa	<i>A.rhizogenes</i>	3000	32	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		32	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>		32	0	0,00%	IA	
				<i>(Promedio)</i>		96	0	0,00%	IA	
13/02/04	23	Anselma Zenteno	Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	78	20	7	35,50 %	ID	
				<i>A.rhizogenes</i>		20	3	15,00 %	ID	
27/02/04	31	Bernardo Soruco	Ciruelo	<i>A.tumefaciens</i>	80	80	2	2,50%	ID	
				<i>A.rhizogenes</i>		80	1	1,25%	ID	
27/02/04	32	Ema Navajas	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	50	35	0	0,00%	ID	Linderos
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
Sella Méndez										
14/02/04	24	Beatriz Velásquez	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	20	20	1	5,00%	ID	
				<i>A.rhizogenes</i>		20	2	10,00 %	ID	

			Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	20	20	0	0,00% 25,00% %	ID	
			Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	25	25	0	0,00%	ID	
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	100	13 13 26	0 0 0	0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA	
14/02/04	25	Venancio Jurado	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	130	104	2	1,92%	ID	
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	52	26 26	1 1	3,85% 3,85%	ID ID	
14/02/04	26	Remy Gareca	Vid	<i>A.tumefaciens</i>	75	75	4	5,33%	ID	
14/02/04	27	Placida Gareca	Ciruelo	<i>A.tumefaciens</i>	7	7	2	28,57% %	ID	
			Durazno	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	200	33 40 73	3 4 7	9,09% 10,00% % 9,595	IA IA IA	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
San Luís										
17/02/04	28	John Muggeridge	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	200	56	1	1,79%	ID	El productor indica que se extirpa los tumores y aplica pasta bordalez
			Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	191	25 6 20 15 30 96	0 0 0 0 4 4	0,00% 0,00% 0,00% 0,00% 13,33% 4,17%	ID ID ID ID ID ID	Cada evaluación es por variedad diferente
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	300	30 30 30 90	0 0 0 0	0,00% 0,00% 0,00% 0,00%	IA IA IA IA	
17/02/04	29	Mario Hinojosa	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	30	30	4	13,33% %	ID	
			Vid	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> <i>A.tumefaciens</i> (Promedio)	1206	30 30 30 90	0 2 0 2	0,00% 6,67% 0,00% 2,22%	IA IA IA IA	
28/02/04	33	Eriberto Gonzales	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	55	55	3	5,45%	ID	
28/02/04	34	Alberto Ichazu	Durazno	<i>A.tumefaciens</i>	500	50	0	0,00%	ID	Según el encargado, se implantaron 1000 plantas de las cuales al menos 100 se murieron por Agalla
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	20	20 20	1 3	5,00% 15,00% %	ID ID	
Comunidad		Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones
Fecha	Parcela									
COCHABAMBA										
Huayllani Chico										
16/02/04	1 Cbba.	Vivero Cuatro Estaciones Rafael Moreno Elena Soria	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	12	12	1	8,33%	ID	Plantines en bolsa, No contemplado para el Prom.
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i> <i>A.rhizogenes</i>	10	10 10	0 1	0,00% 10,00% %	ID ID	
			Ciruelo	<i>A.tumefaciens</i>	4	4	3	75,00% %	ID	Plantines en bolsa, No contemplado para el Prom.

Evaluación de la Incidencia y Mapeo de Agalla de Corona (*Agrobacterium tumefaciens*) en Comunidades Productoras de Especies del Género *Rubus* en Tarija y Cochabamba

			Ciruelo	<i>A.tumefaciens</i>	28	12	3	25,00	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	14	4	%	IA		
		Damasco	<i>A.tumefaciens</i>	6	6	2	33,33	ID		
			(Promedio)		28	8	%	IA		
16/02/04	2 Cbba.	Serafín Castellón	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	300	25	2	8,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	25	0	0,00%	IA		
				(Promedio)	50	2	4,00%	IA		
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	1500	30	0	0,00%	IA	El productor indica que se encontraron agallas en la Frambuesa pero se la arranca y quema la planta
				<i>A.tumefaciens</i>	30	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>	30	0	0,00%	IA		
				(Promedio)	90	0	0,00%	IA		
Comunidad	Propietario	Cultivo	Patógeno	Total Plantas	Plantas Eval.	Plantas Afect.	% de Incid.	Mtdo.	Observaciones	
Fecha	Parcela									
Tuscapugio										
16/02/04	3 Cbba.	Vivero Cuatro Estaciones Rafael Moreno	Zarzamora	<i>A.tumefaciens</i>	60	6	0	0,00%	IA	
				<i>A.tumefaciens</i>	6	2	33,33%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>	6	0	0,00%	IA		
				(Promedio)	18	2	11,11%	IA		
			Frambuesa	<i>A.tumefaciens</i>	150	8	0	0,00%	IA	El total plantas de 150 corresponde al número de plantas madre, según el productor
				<i>A.tumefaciens</i>	8	0	0,00%	IA		
				<i>A.tumefaciens</i>	6	0	0,00%	IA		
				(Promedio)	22	0	0,00%	IA		
			Vid	<i>A.tumefaciens</i>	60	6	0	0,00%	ID	
			Manzano	<i>A.tumefaciens</i>	8	5	2	40,00%	ID	Linderos internos
			Damasco	<i>A.tumefaciens</i>	10	6	4	66,67%	ID	Linderos internos

Annex 5

Soil Laboratory Report

Anexo 5

Informe Laboratorio de Suelos

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA JUAN MISAELE SARACHO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y FORESTALES**

LABORATORIO DE SUELOS

Campus “El Tejar” : Casilla 51 – Tel: 4643121/4645649 Fax: 4643403 – Tarija, Bolivia

ANÁLISIS QUÍMICO

INTERESADO: OMAR GUTIERREZ **PROCEDENCIA:** EL VALLE CENTRAL DE TARIJA **FECHA DE REGISTRO:** 02.03.04

No. de Lab	Identificación	Prof. (cm)	pH		C.E. (mmhs/cm)		CATIONES DE CAMBIO (me/100g)					Acidez (me/100gr)	Al me/100 gr	M.O (%)	N.T (%)	P Olsen (Ppm)
			Extracto	1:5	Extracto	1:5	Ca	Mg	K	Na	CIC					
1382	CBBA 2			7.6												
1383	CBBA 3			6.8												
1384	Tomatas Grande 1			7.3												
1385	Tomatitas 8			7.4												
1386	Canasmoro 5			7.5												
1387	Rancho Sud 9			7.0												
1388	Rancho Norte 12			7.4												
1389	Sella Méndez			7.4												
1390	Sella Méndez 25			7.8												
1391	Erquis Ceibal 21			7.3												
1392	Tarija Cancha 18			7.2												
1393	San Luís			7.8												

CE Conductividad

MO Materia Orgánica

NT Nitrógeno Total

P Fósforo asimilable

ANALISTA

Ing. Luis Arandi Mendivil

Fecha: 04.03.04

**JUAN MISael SARACHO AUTONOMOUS UNIVERSITY
DEPARTMENT OF AGRICULTURAL AND FORESTAL SCIENCES**

SOIL LABORATORY

Campus “El Tejar” : Casilla 51 – Tel: 4643121/4645649 Fax: 4643403 – Tarija, Bolivia

CHEMICAL ANALYSIS

PERSON INTERESTED: OMAR GUTIERREZ **ORIGIN:** CENTRAL VALLEY OF TARIJA **DATE OF REGISTRY:** 02.03.04

No. of Lab	Identification	Prof. (cm)	pH		C.E. (mmhs/cm)		CATIONES DE CAMBIO (me/100g)					Acidity (me/100gr)	Al me/100 gr	M.O (%)	N.T (%)	P Olsen (Ppm)
			Extract	1:5	Extract	1:5	Ca	Mg	K	Na	CIC					
1382	CBBA 2			7.6												
1383	CBBA 3			6.8												
1384	Tomatas Grande 1			7.3												
1385	Tomatitas 8			7.4												
1386	Canasmoro 5			7.5												
1387	Rancho Sud 9			7.0												
1388	Rancho Norte 12			7.4												
1389	Sella Méndez			7.4												
1390	Sella Méndez 25			7.8												
1391	Erquis Ceibal 21			7.3												
1392	Tarija Cancha 18			7.2												
1393	San Luís			7.8												

CE Conductivity

MO Organic Material

NT Total Nitrogen

P Readily assimilated Phosphorous

ANALYST
Luis Arandi Mendivil

Date: 04.03.04